Aus der II. Medizinischen Klinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. Schölmerich

ÜBER DIE PLASMAINSULINAKTIVITÄT BEI ATHEROSKLEROSE

(Myocardinfarkt, Apoplexie, Verschlußkrankheit)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Klaus Rochholz
aus Ludwigshafen

Mainz 1966
1967

Aus der II. Medizinischen Klinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. Schölmerich

ÜBER DIE PLASMAINSULINAKTIVITÄT BEI ATHEROSKLEROSE

(Myocardinfarkt, Apoplexie, Verschlußkrankheit)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Klaus Rochholz
aus Ludwigshafen

Mainz 1966

Dekan: Professor Dr. Diethelm

Referent: Professor Dr. Knick

Korreferent: Professor Dr. Schölmerich

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

Promoviert am: 14. Juli 1967

I N H A L T

A. Einleitung

I. Atherosklerose und Diabetes mellitus S. 3

II. Klinische Definitionen: Manifester Diabetes, latenter Diabetes, Prädiabetes S. 5

B. Hauptteil

I. Atherosklerose und Angiopathia diabetica S. 8

II. Die Plasmainsulinaktivität: Methoden und Ergebnisse S. 15

III. Eigene Untersuchungen:
1. Krankengut und Gruppierung S. 19
2. Methodik der ILA-Bestimmung S. 21
3. Methodik der Glukosebestimmung S. 33
4. Statistische Auswertungsmethodik S. 37
5. Ergebnisse S. 40

IV. Diskussion S. 44

C. Zusammenfassung und Schluß S. 49

Literatur S. 51

Im Anhang: Tab. 2-6, Abb.1-13, Muster zur ILA-Bestimmung (Abb. 14)

Lebenslauf

Die in den Text eingestreuten Zahlen in eckigen Klammern weisen auf das Literaturverzeichnis am Schluß der Arbeit hin.

A. EINLEITUNG

I. Atherosklerose und Diabetes mellitus

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Atherosklerose und Zuckerkrankheit scheint über den Fettstoffwechsel gegeben. Der Atherosklerose verwandte Störungen im Lipidstoffwechsel, die mit einem Anstieg des Triglyceridspiegels, der freien Fettsäuren und des Cholesterins im Plasma einhergehen, sind Hauptbestandteil des gestörten Stoffwechsels beim Diabetiker [34]. Auch in den vordiabetischen Phasen sind erhöhte Serumlipidspiegel festgestellt worden [38], und es ist anzunehmen, daß hier die Veränderungen im Fettstoffwechsel ähnlich ausgeprägt sein können wie beim manifesten Diabetes. Dies steht im Einklang mit Randles Hypothese, daß beim Diabetes melitus die Störung des Fettstoffwechsels ursächlich ist.

Auf diesen Erwägungen basieren auch die Vorschläge, schon bei leichten Störungen des Kohlehydratstoffwechsels unschädliche orale Antidiabetika zu geben in der Absicht, die nach allgemeiner Ansicht atherogene Hypercholesterinämie zu normalisieren.[91]

In jüngerer Zeit wird in zunehmendem Maße die Bedeutung der Zuckerharnruhr für die Entstehung atherosklerotischer Gefäßleiden betont. Dies umso mehr, seit man erkannt hat, daß schon erhebliche Gefäßveränderungen auf diabetischer Grundlage vorliegen können, ohne daß die typischen diabetischen Symptome wie Glykosurie, Hyperglykämie, Polydipsie vorhanden zu sein brauchen [22]. In solchen Fällen vermögen jedoch oft bestimmte Belastungsteste die latente diabetische Stoffwechsellage aufzudecken.

So fanden verschiedene Untersucher bei zahlreichen Patien-

ten mit atherosklerotischen Gefäßleiden, insbesondere auch mit Myocardinfarkt, eine gestörte Glukosetoleranz (Glukose oral oder intravenös bzw. Doppelbelastung nach Staub-Traugott [20,24,65,72,76,89,90]), oder auch einen pathologischen Tolbutamidtest nach Unger und Madison [11]. Nach Knick fällt das atherosklerotische Gefäßleiden mit dem typischen vordiabetischen Stoffwechselbild zusammen [48].

In diesem Zusammenhang lag es nahe, ein definiertes atherosklerotisches Krankengut im Hinblick auf die insulinähnliche Aktivität im Blutplasma zu untersuchen, um möglicherweise vorhandene Abweichungen im Sinne einer diabetogenen Stoffwechsellage zu erfassen.

II. Klinische Definitionen: Manifester Diabetes
Latenter Diabetes
Prädiabetes

Als manifester Diabetes mellitus wird der Zustand bezeichnet, bei dem nicht nur vorübergehend - zum Beispiel nach Kohlehydratreichen Mahlzeiten - sondern über längere Zeit der Blutzucker über die Norm erhöht ist. Diese Hyperglykämie bedingt, wenn sie einen bestimmten individuellen Schwellenwert überschritten hat, Glukosurie. Da der Körper mit der renalen Zuckerausscheidung große Mengen an Flüssigkeit verliert, die zur Lösung der hochmolekularen Zuckerstoffe notwendig sind, kommt es zu einer Polyurie mit hellem Harn von hohem spezifischen Gewicht. Die Polyurie hat eine Vieltrinkerei, eine Polydipsie, zur Folge.

Während sich also im manifesten Stadium der Zuckerkrankheit die Störung des Kohlehydratstoffwechsels in einer über längere Zeit bestehenden Hyperglykämie mit Glukosurie am augenfälligsten dokumentiert, ist beim latenten Diabetes mellitus der Blutzuckerspiegel unter normalen Bedingungen nicht erhöht. Der latente Diabetes ist der Zustand, der vor der dauernden Erhöhung des Blutzuckers mit Glukosurie liegt. Erst bestimmte Provokationsteste decken die Beeinträchtigung des Kohlehydratstoffwechsels auf.

So bewirkt perorale oder intravenöse Gabe von Glukose einen höheren und länger anhaltenden Anstieg der Blutzuckerwerte, als dies normalerweise der Fall ist. Umgekehrt ist im Tolbutamidtest nach Unger und Madison der Abfall der Blutzuckerwerte nach intravenöser Injektion von Tolbutamid vermindert. Im angelsächsischen Schrifttum wird vom latenten Diabetes,

der dort als "subclinical" oder "chemical diabetes" bezeichnet wird, gelegentlich noch ein "latent chemical diabetes" abgegrenzt. Bei letzterem tritt erst in Verbindung mit gleichzeitiger Cortisongabe eine abnorme Glukosetoleranz auf [19].

Als Prädiabetes wird der Zustand bezeichnet, der vor der wie auch immer gearteten Störung des Kohlehydratstoffwechsels liegt [52]. Hier bewirken auch Glukosebelastung mit oder ohne Cortison kein abnormes Verhalten des Blutzuckers. Lediglich eine verbesserte Auswertung des Tolbutamidtestes (T3) scheint neuerdings in der Lage zu sein, für den Prädiabetes charakteristische Abweichungen im Verhalten des Blutzuckers nach intravenöser Injektion von Tolbutamid zu erfassen.

Der Prädiabetes umfaßt die Spanne von der Konzeption des wie auch immer gearteten diabetischen Defektes bis zu dem Punkt, wo die Krankheit klinisch bzw. klinisch-chemisch faßbar wird. Es folgt hieraus, daß die Diagnose in praxi meist erst retrospektiv gestellt wird, wenn nach Erkennen der diabetischen Stoffwechselstörung nachträglich die Phase von der Konzeption bis zur Manifestation als Prädiabetes bezeichnet wird.

Nun gibt es Individuen, die auf Grund der Erblichkeitsverhältnisse als Prädiabetiker zu gelten haben. Das sind einmal Kinder, deren beide Eltern an Diabetes erkrankt sind, sowie eineiige Zwillinge von Diabetikern. Bei diesen Individuen liegt eine genetisch begründete Prädisposition zur Ausbildung der Zuckerkrankheit vor. Auch die Mütter von sog. "big babies" sind als Prädiabetikerinnen zu bezeichnen, wie überhaupt mit der Kontrolle und Beurteilung des Schwangerschaftsverlaufs eine Möglichkeit gegeben ist, einen Prädiabetes zu diagnostizieren oder zu vermuten [42].

Ob es bei Prädiabetikern zur Manifestation der Krankheit kommt, hängt einmal von der Lebensdauer ab, zum zweiten von der Einwirkung möglicher, die Auslösung des Leidens

begünstigender Faktoren. So können Infekte, Übergewicht sowie Pubertät und Klimax den Übergang in das latente oder gar manifeste diabetische Stadium herbeiführen.

Als zuverlässige Zeichen für die Diagnose des latenten und manifesten Diabetes sind Gefäßveränderungen im Sinne einer diabetischen Retinopathie oder einer diabetischen Glomerulosklerose (Kimmelstiel-Wilson) anzusehen [53]. Mögliche Vorstufen der Erkrankung von Arteriolen , Venolen und Kapillaren , zum Beispiel in Form von Veränderungen an der Basalmembran und am elastischen Gewebe, wurden bereits bei nichtdiabetischen Personen mit familiärer Diabetesbelastung häufig beobachtet [19].

B. HAUPTTEIL

I. Atherosklerose und Angiopathia diabetica

Die Begriffe Arteriosklerose und Atherosklerose werden heute teils gleichsinnig, teils verschiedensinnig gebraucht. Im folgenden verwende ich nur den Begriff Atherosklerose und verstehe darunter jene Form von Arterienerkrankung, die - nach der von der amerikanischen Gesellschaft zum Studium der Arteriosklerose vorgenommenen Gliederung - charakterisiert ist durch die Bildung von Atheromen der Intima, die zur Einengung des Arterienlumens führen und durch thrombotischen Verschluß kompliziert sein können [36].

Die Vorstellungen von der Pathogenese der Atherosklerose werden heute weitgehend beherrscht von der Theorie, die der Physiologe Keys vor etwa zehn Jahren entwickelt hat. Danach bewirkt jede an gesättigten Fettsäuren reiche Kost eine Tendenz zu hohem Plasmacholesterinniveau. Hohes Plasmacholesterin fördert das Entstehen und Fortschreiten atherosklerotischer Prozesse und erhöht dadurch die Häufigkeit des Koronartodes. Keys stützt seine Theorie auf tierexperimentelle Beobachtungen, klinische Erfahrungen und epidemiologische Feststellungen. Größere Bedeutung scheint nach neueren Untersuchungen dem Triglyceridspiegel zuzukommen [37].

Mit der Hypertonie spielt der Diabetes mellitus als Vorkrankheit der Atherosklerose die Hauptrolle. Es gibt keine andere Krankheit, bei der die Atherosklerose so häufig ist.

Nach morphologischen, biochemischen und nicht zuletzt auch nach klinischen Kriterien ist es heute angezeigt, die Gefäßveränderungen bei langdauerndem klinischen Diabetes mellitus als mehr oder weniger spezifisch aufzufassen und von der gewöhnlichen Atherosklerose abzutrennen. Freilich ist darauf hinzuweisen, daß Durchblutungsstörungen bei Diabetes mellitus nicht allein durch stoffwechselbedingte Arterienveränderungen hervorgerufen werden, sondern daß sich der zwangsläufig bei jedem alternden Menschen sich entwickelnden Atherosklerose auch jene Gefäßveränderungen aufpfropfen, die wir als spezifisch diabetisch bezeichnen [70]. Bei letzteren kann man grob definieren zwischen Befallensein der kleinsten und kleinen Gefäße (Mikroangiopathia diabetica) und Störungen seitens der größeren und großen Gefäße (Makroangiopathia diabetica)[53].

Die diabetische Mikroangiopathie kann sich an allen Gefäßprovinzen des Organismus manifestieren, sofern die kleinsten Gefäße eine Basalmembran besitzen. Häufigste Lokalisation sind die Blutgefäße der Netzhaut und des gesamten Uvealtraktes (Retinopathia diabetica), der Nieren (Nephropathia diabetica), aber auch die Gefäße der Subcutis und der Muskulatur können betroffen sein [53]. Charakteristisch ist die lokale Ablagerung von Mucopolysaccharid im Bereich der Basalmembran. Neuerdings wird vorgeschlagen, die diabetische Mikroangiopathie auf die Veränderungen der Basalmembran zu beschränken und die diabetische Retinopathie davon abzutrennen [8].

Bei der Retinopathia diabetica, die sich bei etwa 30 % aller Diabetiker nachweisen läßt, finden wir je nach Schweregrad flohstichartige Blutungen, Mikroaneurysmen, Ablagerungen von Lipoid und Hyalin bis zu schweren proliferativen Veränderungen (Gefäßwunderknäuel, Bindegewebssegel usw.). Auch Ablatio retinae, Glaskörpereinblutungen und sekundäres Glaukom kommen vor. Besonders ge-

fährdet sind Patienten mit Diabetesmanifestation im kindlichen und jugendlichen Alter [53]. Der Retinopathie kommt im Hinblick auf die diabetische Angiopathie eine große diagnostische Bedeutung zu, da sie leicht und ohne Eingriff festgestellt werden kann.

Die zweite Hauptmanifestationsform der diabetischen Mikroangiopathie ist die Nephropathia diabetica. Hier sind lichtmikroskopische Veränderungen im Sinne einer Glomerulosklerose Kimmelstiel-Wilson zu unterscheiden von elektronenoptisch wahrnehmbaren. Im ersten Falle werden hyaline Substanzen im Glomerulusbereich abgelagert, was bis zur Verödung ganzer Glomerula führen kann. Außerdem findet man im fortgeschrittenen Stadium eine Arteriolosklerose. Im elektronenmikroskopischen Bild finden wir eine ungleichmäßig keulenförmig verdickte Basalmembran, wobei in unregelmäßiger Anordnung Granula, Fäden und Bläschen eingestreut sind. Diese basalmembranähnlichen Massen scheinen nicht unmittelbar aus dem strömenden Blut, sondern aus dem Endothel der Gefäße zu stammen [1,54].

Einen deutlichen Einfluß auf den Blutdruck im Sinne einer Erhöhung hat die diabetische Nephropathie meist erst, wenn stärkere arteriolosklerotische Veränderungen vorliegen. Die Nephropathie geht meist mit der Retinopathie parallel und neigt auch wie diese zur Progredienz. Das Endstadium ist die Urämie.

Diabetesspezifische degenerative Veränderungen im Bereich der vasa vasorum sind wohl mitverantwortlich für die Neuropathia diabetica, ihre Bedeutung für die angiopathischen Veränderungen größerer Gefäße ist jedoch zweifelhaft [55].

Die Meinungen über die Sonderstellung der diabetischen Makroangiopathie sind nicht einheitlich. Von pathologisch-anatomischer Seite vertritt Bredt folgende Auffassung: [14]

1. Eine spezifisch diabetische Wandstruktur der größeren Gefäße kann nicht nachgewiesen werden.

2. Die einzelnen Strukturelemente können beim Diabetes ein besonderes Korrelationsverhältnis eingehen, so daß indirekt auf eine diabetische Grundkrankheit geschlossen werden kann.

3. Die gewöhnlich in höherem Alter beobachteten Erkrankungen der Media und Intima können bei Diabetikern vorzeitig beobachtet werden, ohne daß ihren einzelnen Strukturen eine besondere Eigenart anhaftet.

Deutliche Unterschiede brachten angiochemische Untersuchungen. Danach unterscheiden sich die Ablagerungen in den großen Gefäßen von Zuckerkranken von denen bei reiner Atherosklerose quantitativ und in ihrer qualitativen Zusammensetzung. Bei Zuckerkranken sind die Schlackenablagerungen besonders reich an Galaktosid und Cholesterin. Die Veränderungen treten früher auf und sind gegenüber der reinen Atherosklerose ausgeprägter.

Aus der gesamten Weltliteratur geht einwandfrei hervor, daß alle Erkrankungen der großen Gefäße, mögen sie nun Atherosklerose oder Angiopathia diabetica genannt werden, bei Diabetikern in einem früheren Lebensalter aufzutreten pflegen. Praktisch alle Kranken haben mit einer Atherosklerose zu rechnen, wenn sie lange genug leben. Es besteht bei ihnen eine besondere Neigung zur Erkrankung der Herzkranzgefäße, so daß in einzelnen Klientelen der Herzinfarkt an erster Stelle der Todesursache der Zuckerkranken liegt.

Besonderheiten weist auch die diabetische Gangrän auf.

Die unteren Extremitäten werden bevorzugt. Nach R. Semple [15] stellt das typische Syndrom für einen arteriellen Verschluß an der unteren Extremität beim Nichtdiabetiker die Claudicatio intermittens, beim Diabetiker die Gangrän dar. Die diabetischen Gefäßveränderungen scheinen distaler zu liegen. Nach Strandness [81] haben die Diabetiker eine gleiche Verschlußhäufigkeit im Gebiet der Aa. femoralis und poplitea, aber eine höhere unter dem Knie. Wie von den übrigen Manifestationen der Makroangiopathie werden auch von der Gangrän Übergewichtige häufiger und schwerer befallen als Normal - oder Untergewichtige. Pathogenetisch ist zunächst an atherosklerotische Einengung der Blutbahn zu denken. Es können auch vorwiegend spastische oder embolische Verschlüsse vorliegen [58]. Daneben spielen aber wohl noch andere Faktoren eine Rolle. So spricht das Auftreten von Gangrän am Fuß bei guterhaltenem Fußpuls für eine ätiologische Beteiligung des peripheren Stromgebietes im Sinne einer lokalen Durchblutungsstörung [17].

Beim Bestehen einer Makroangiopathia diabetica brauchen nicht gleichzeitig degenerative Veränderungen der kleinen und kleinsten Gefäße vorzuliegen. Häufig stellt die Makroangiopathie eine Frühkomplikation eines unter Umständen nur leichten oder an der Grenze der Latenz befindlichen sog. Altersdiabetes dar. Die Mikroangiopathie befällt wiederum besonders schwer die jugendlichen Diabetesmanifestationen. In solchen Fällen findet man dann auch regelmäßig bald atheromatöse Veränderungen im Bereich der großen Gefäße, z. B. der Aorta und der Coronararterien [53].

Alle besprochenen diabetischen Gefäßkomplikationen sind nicht an das Vorhandensein eines manifesten Diabetes melitus gebunden, sondern können auch ohne Vorliegen der typischen diabetischen Symptome auftreten. So kann man einen Patienten mit Gangrän der unteren Extremitäten vor sich haben, ohne daß man von dessen Diabetes wußte, ohne daß eine Glukosurie oder Erhöhung des Nüchternblutzuckers vorliegen. Erst ein pathologischer Glukosetoleranztest mag dann die latent diabetische Stoffwechsellage aufdecken.

Ein weiteres Zeichen der Gefäßbeteiligung beim jugendlichen Diabetiker, das auch bei nichtdiabetischen Geschwistern von bekannten Diabetikern angetroffen wird, ist eine abnorme arterielle Pulsation [23].

Bei der Coronarsklerose auf nichtdiabetischer Grundlage ist der Geschlechtsunterschied nicht so ausgeprägt wie bei der reinen Atherosklerose der Coronararterien. Somit sind eine Angina pectoris oder ein Coronararterienverschluß bei einer Frau, auch wenn klinische Diabetessymptome fehlen, sehr auf Diabetes verdächtig, insbesondere wenn keine Hypertonie vorliegt [23].

Blutchemisch finden wir bei der Angiopathia diabetica gewisse Verschiebungen der Serumeiweißfraktionen und Veränderungen im Lipoidhaushalt. Dabei sind bei der Mikroangiopathie die Beziehungen zum Eiweißhaushalt, bei der Makroangiopathie zum Lipoidstoffwechsel offensichtlicher. So kann es in einer gewissen Korrelation zum Schweregrad der Angiopathie zu einem Anstieg des Gesamtcholesterin, der Totallipoide, der Phospholipoide und vor allem der Fettsäuren und Triglyceride kommen.[56]. Es macht dabei wenig Unterschied, ob ein manifester Diabetes vorliegt oder nicht.

Wenn die diabetischen Gefäßveränderungen schon in der präglykämischen Phase auftreten, kann man sie nicht gut als Komplikationen bezeichnen, sondern sie sind integrierender Bestandteil des diabetischen Syndroms. Bisher wurde vor allem die spezifische diabetische Mikroangiopathie als mit dem genetischen Defekt des diabetischen Syndroms verbunden angesehen, besonders auch auf Grund der außerordentlich seltenen Manifestation generalisierter Mikroangiopathien bei sekundärem Diabetes (Hämochromatose; Zustand nach Pankreatektomie). Neuere Untersuchungen hingegen, mit denen es gelang, experimentell beim Tier eine diabetische Mikroangiopathie zu erzeugen, lassen deren

Entstehung als sekundär, durch die diabetische Stoffwechselanomalie bedingt und nicht primär genetisch determiniert interpretieren [7].

Den Einfluß von Umwelt und Ernährung unterstreicht offenbar das geringe Vorkommen von Gefäßleiden bei diabetischen jemenitischen Juden [12]. Bei diesem Personenkreis wurden gleichzeitig das Gesamtcholesterin und die Lipide im Serum höher gefunden als bei gesunden Jemeniten, aber schienen niedriger als bei westlichen Diabetikern. Man vermutet die Hauptursache hierfür in der jemenitischen Diät: wenig Fett und viel Kohlehydrate [13].

II. Die Plasmainsulinaktivität: Methoden und Ergebnisse

Die biologischen Methoden, den Insulingehalt biologischer Flüssigkeiten zu bestimmen, basieren auf dem hypoglykämischen Effekt, den Insulin bei Tieren, deren Empfindlichkeit durch endokrine Manipulationen erhöht wurde, hervorruft, oder auf der Insulinwirkung in vitro auf isoliertes Gewebe, insbesondere Ratten- oder Mäusezwerchfell, oder Rattenfettgewebe.

Da wir für unsere Untersuchungen eine Fettgewebsmethode verwandten, sei auf den Stoffwechsel dieses Gewebes und seine Beeinflussung durch Insulin in vitro näher eingegangen.

Insulinzugabe erhöht merklich die Glukoseaufnahme des Fettgewebes in vitro sowie die Oxydation von Glukose zu CO_2. Die Synthese von langen Fettsäuren, auch von Milchsäure, wird stimuliert. Gleichzeitig wird die Freisetzung von freien Fettsäuren aus dem Fettgewebe gebremst [67]. Der Gasaustausch des Fettgewebes, im Warburg-Apparat gemessen = Nettogasaustausch, ergibt nach Insulingabe einen respiratorischen Quotienten > 1. Dies ist vor allem auf die CO_2-Bildung durch Glukoseoxydation zurückzuführen, zum Teil wohl auch auf die Freisetzung von CO_2 aus dem Bicarbonat des Mediums, in dem das Fettgewebe inkubiert ist, durch Milchsäurebildung. Weiterhin bewirkt Insulin am Fettgewebe eine Fett- und Glykogensynthese aus Glukose.

Diese Insulineffekte treten nach zehn bis fünfzehn Minuten auf. Sie gehen linear mit der Zeit; erst von der dritten Stunde an nahm der Glukosestoffwechsel ab [44].

Die Insulineffekte sind abhängig von der Konzentration. Das Insulin bewirkt, daß Glukose in die Fettzelle permeiert; der genaue Mechanismus dieses Vorganges ist unbekannt. Erhöhung der Glukosekonzentration im Medium wirkt wie eine Erhöhung der Insulinkonzentration (d.h. es geht mehr Glukose in die Zelle).

Wenn man epididymales Fettgewebe der Ratte verwendet, zeigt sich der Zapfel vom linken Nebenhoden aktiver im Nettogasaustausch als der rechte, die distalen Zipfelteile aktiver als die proximalen. Dies kann durch die unterschiedliche Dicke des Gewebes bedingt sein, die zu einem Unterschied in der Diffusion der Substrate führt.

Auch zwischen den einzelnen Tieren besteht ein Unterschied in der Ansprechbarkeit ihres Fettgewebes auf Insulin. Desweiteren nimmt die Ansprechbarkeit mit dem Alter der Tiere ab.[45].

Nachdem Martin, Renold und Dagenais [51] die ausgesprochene Empfindlichkeit des Fettgewebes auf Insulin hervorgehoben hatten, benutzten Renold, Sheps und Mitarbeiter [68,74] die Oxydation von Glukose-1-C^{14} zu $C^{14}O_2$ für die Insulinbestimmung im Blutplasma. Verschiedene Forscher gebrauchten diese Methode mit gleich guten Ergebnissen. Humbel u.a. [3,43,78] bestimmten die Glukoseaufnahme von Nebenhodenfett, und Ball und Merrill [2] bestimmten den Nettogasaustausch als Index für die Insulinaktivität.

Allen genannten Methoden haftet der Mangel an, daß es indirekte biologische Verfahren sind. Als solche sind sie nicht spezifisch auf Insulin, sondern unterliegen der störenden Beeinflussung anderer Substrate im Serum, die entweder insulinähnlich am Fettgewebe bzw. Muskelgewebe wirken oder sich antagonistisch zu Insulin verhalten und somit die wahre Insulinaktivität im Serum nach oben oder un-

ten verfälschen können. Dies ist wohl eine der Hauptursachen für die Diskrepanz zwischen den mit den verschiedenen Methoden gewonnenen Ergebnissen sowie für die hohe Schwankungsbreite der mit ein und der selben Methode gewonnenen Werte für die Insulinaktivität. Mit Rücksicht auf diese Störfaktoren ist man auch nicht berechtigt, die mit den genannten Methoden gewonnenen Werte als die tatsächliche Insulinaktivität im Plasma anzusehen, sondern man spricht hier nur von einer "insulinähnlichen Aktivität" (insulin like activity = ILA) [21,51,93].

Der Mittelwert für die ILA in unverdünntem Serum von nüchternen Normalpersonen ist 50 Mikroeinheiten (uE) pro ml Serum mit der Zwerchfellmethode [73,88,95] und ungefähr 20 uE mit der Immunmethode von Yalow und Berson [96].

Die mit der Fettgewebsmethode erhaltenen Werte liegen bedeutend höher und variieren zwischen 30 und 1000 uE/ml [50,63,74]. Randle [64], Willebrands, van der Geld und Groen [92] bestimmten die ILA in verdünntem Serum mit der Zwerchfellmethode und fanden Werte in derselben Höhe wie mit der Fettgewebsmethode.

Obwohl diese Diskrepanzen zur Zeit noch nicht voll erklärt werden können, sind folgende Punkte von Bedeutung:

1. Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, Wachstumshormon und Glukagon erhöhen die Glukoseaufnahme des Fettgewebes in vitro. Im Gegensatz zu Insulin jedoch erhöhen diese sog. lipolytischen Hormone nicht die Fettsäuresynthese aus Glukose, sondern setzen sie eher herab [18,26,49,94]. Diese Hormone haben am Zwerchfell keine Wirkung [66], mit Ausnahme des Adrenalin und Noradrenalin, die seine Glukoseaufnahme hemmen [41,47].

2. Verschiedene Faktoren im menschlichen Serum blockieren die Insulinwirkung am Zwerchfell in vitro [4]; am Fettgewebe wird Insulin nur durch im Serum vorhandene Insu-

linantikörper blockiert. [29].

Die unter 1. und 2. aufgeführten Faktoren würden entweder irrtümlich hohe ILA-Werte mit der Fettgewebsmethode oder zu niedrige Werte mit der Zwerchfellmethode ergeben.

3. Darüberhinaus wird die ILA des Humanserums am Zwerchfell beinahe vollständig durch Insulinantikörper unterdrückt [82], aber nur teilweise am Fettgewebe. Somit ist Fettgewebe möglicherweise empfindlich gegenüber insulinähnlichen Substanzen, die sich von Insulin in ihrer Stoffwechselwirkung auf andere Gewebe und möglicherweise auch in ihrer immunologischen Eigenschaft unterscheiden [4].

Neben der Glukoseaufnahme wurde von uns der Nettogasaustausch des Fettgewebes als ein zusätzlicher Stoffwechselindex für die ILA benutzt. Der Nettogasaustausch des Fettgewebes ist proportional der Fettsäuresynthese aus Glukose und somit sehr empfindlich gegenüber Insulin [33]. Man benötigt dazu nur ein relativ einfaches manometrisches Meßverfahren. Das gleichzeitige Registrieren von Glukoseaufnahme und Nettogasaustausch erlaubt, zwischen der wahren ILA und der Wirkung der lipolytischen Fermente im Serum zu unterscheiden. Die Wirkung von Serum auf diese beiden Indices des Fettgewebsstoffwechsels kann nicht von der von reinem kristallisierten Insulin unterschieden werden [29].

Die heute wohl exakteste Insulinbestimmungsmethode ist die immunologische [39,96], weil chemisch spezifisch für das Insulinmolekül. Dabei wird mit J^{131} markiertes Insulin zu einem Überschuß von Antikörpern gegeben, wo es schnell gebunden wird. Wenn nun weiter unbehandeltes Insulin in wachsender Menge zugegeben wird, wird das Bindevermögen des Mediums allmählich abgesättigt, was sich in einem Anwachsen von ungebundenem Insulin-J^{131} äußert [39].

III. Eigene Untersuchungen

1. Krankengut und Gruppierung

Bei einem Kollektiv von 18 Patienten mit Atherosklerose und einem Vergleichskollektiv aus 28 Stoffwechselgesunden wurde die insulinähnliche Aktivität im Serum bestimmt. Die Gruppe der Atherosklerotiker, alle aus dem stationären Krankengut, setzt sich wie folgt zusammen:
9 Fälle mit Myocardinfarkt,
5 Fälle mit atherosklerotischen Durchblutungsstörungen der Extremitäten (Verschlußkrankheit),
zwei Fälle mit Zustand nach apoplektischem Insult,
ein Fall mit generalisierter Atherosklerose sowie
ein Fall mit stenocardischen Beschwerden auf Grund einer Coronarsklerose.

Maßgebend für die Auswahl der Herzpatienten waren die Veränderungen im Elektrokardiogramm und die Erhöhung der Transaminasen und Kreatinphosphokinase. Bei den übrigen Fällen wiesen das Alter, die Anamnese, ein bestehender Hypertonus sowie angiographische Gefäßdarstellungen im Verein mit dem sonstigen klinischen Befund auf die bestehenden atherosklerotischen Gefäßveränderungen hin.

Abgesehen von der atherosklerotischen Grundkrankheit bestanden sonst keine Stoffwechselstörungen, insbesondere kein manifester Diabetes melitus. Bei sechs Patienten lag ein Tolbutamidtest vor, wobei sich in vier Fällen Hinweise auf eine vordiabetische Stoffwechsellage ergaben.

Das Vergleichskollektiv setzt sich - mit Ausnahme von drei freiwilligen Versuchspersonen - aus stationären oder ambulanten Patienten zusammen, bei denen keine Stoffwechselkrankheit oder endokrine Erkrankung nachgewiesen war. Es wurden in beiden Kollektiven nur männliche Individuen untersucht, bei denen in der Familienanamnese kein Diabetes vorlag.

Zur Zeit der ILA-Bestimmung erhielten die Patienten keine differente Medikation, insbesondere keine Glucocorticoide.

Das Durchschnittsalter des Vergleichskollektivs beträgt 41 Jahre, das der Atherosklerosegruppe 59 Jahre.

2. Methodik der ILA-Bestimmung

Wir verwandten - von kleinen Modifikationen in technischen Details abgesehen - das Verfahren von E.R. Froesch und E.B. Ramseier, Zürich.

Prinzip

Der Effekt des Insulin am Fettgewebe, der in einer vermehrten Glukoseaufnahme und Fettsäure- oder Triglyceridsynthese unter gleichzeitiger O_2-Aufnahme und CO_2-Abgabe besteht, wird zur Bestimmung unbekannter Insulinaktivitäten ausgenutzt. Es ist möglich, anhand der Größe der Glukoseaufnahme oder des Nettogasaustausches von O_2 und CO_2 auf die Menge des vorliegenden Insulin, genauer: auf das Ausmaß der "insulin like activity = ILA" Rückschlüsse zu ziehen [25,51]; denn es wird bei diesem Vorgehen nicht die Menge des Insulin bestimmt, sondern nur die Stoffwechselaktivität der untersuchten Serumprobe mit der Stoffwechselaktivität bekannter Insulinmengen (10 und 250 uE/ml) verglichen [63].

Herstellung der notwendigen Lösungen

1. Ansetzen der konz. Stocklösung für Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer (KRB-Puffer).

Sie wird in brauner Glasstöpselflasche im Kühlschrank aufbewahrt. Folgende Stammlösungen werden in dieser Reihenfolge in die Flasche gegeben:

NaCl 4,5%:	100 ml
KCl 5,75%:	4 ml
KH_2PO_4 6,75%:	1 ml
$MgSO_4$ 19,1%:	1 ml
$CaCl_2$ 6,1%:	3 ml

2. Herstellung der Gelatinelösung (10%ig).

10 g weiße Speisegelatine werden in einem Erlenmeyerkolben in 100 ml Aqua bidest. gelöst. Dann Erlenmeyerkolben 20 min lang in siedendes Wasserbad zur Sterilisation stellen, mit Korkzapfen verschließen und im Kühlschrank aufbewahren. Die länger aufbewahrte Lösung wird von Zeit zu Zeit nachsterilisiert.

3. Herstellung der Insulinausgangslösung.

Kristallisiertes Schweineinsulin (hergestellt von den Farbwerken Hoechst A.G., Ffm-Hoechst, Kenn-Nr.260961) mit einer Aktivität von 27 IE pro mg wurde als Standard verwandt. 1,12 mg davon = approx. 30 IE werden mittels einer Ultramikrowaage abgewogen, in 3 ml 1/250 n HCl gelöst und bei 4°C nicht länger als 4 Wochen aufbewahrt.

4. Zubereitung des Gelatinepuffers (0,2%ig) für die Standardinsulinkonzentrationen, des gewöhnlichen KRB-Puffers für die Verdünnung der Seren und des Albumins.

Diese Reagenzien werden für den Bedarf eines jeden Assay frisch zubereitet.

a) 20 ml Stocklösung (1) in 100ml-Meßkolben mit Glas-

stöpsel geben. Gelatinelösung (2) aus dem Kühlschrank durch Erwärmen verflüssigen, ca. 2,2 ml warme Gelatinelösung mit 2ml-Vollpipette aufsaugen und zu der Stocklösung in den Kolben geben. Mit Aqua bidest. auf 100 ml auffüllen, gut schütteln. 16 ml dieser Verdünnung verwerfen. Mit Natriumbicarbonatstammlösung (1,3%) bis zur Hundertermarke auffüllen und wieder gut schütteln.

Abgewogene 200 mg Glucose (Gluc.Puriss.) quantitativ zu der Pufferlösung geben.

b) Der Krebs-Ringer-Bicarbonatpuffer wird ebenso zubereitet unter Auslassen des Gelatinezusatzes und der Glukose.

5. Herstellung des Albuminpuffers.

10 g Albumin (gereinigtes Human-Albumin vom Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes, Bern) werden in 100 ml KRB-Puffer mit Hilfe eines Magnetrührers gelöst, die Lösung in semipermeable Schläuche (von der Fa. Kalle, Wiesbaden-Biebrich) gefüllt und 6-8 Stunden lang gegen KRB-Puffer dialysiert. Das KRB-Pufferbad wird während dieser Zeit dreimal erneuert. Danach wird der Albuminpuffer mittels eines Metalldruckfiltergerätes (MD 50, von Membran-Filter Göttingen) steril filtriert, in 10ml-Flaschen gefüllt und eingefroren.

Vor jedem Assay wird die Albuminkonzentration mittels Biuretreaktion bestimmt und durch Verdünnen mit KRB-Puffer auf 1,5 g% eingestellt.

Arbeitsweise

Herstellung der Insulinstandardlösungen.

Dabei werden 0,1 ml der konz. Insulinausgangslösung (3) mittels Gelatinepuffer und zuletzt Albuminpuffer solange verdünnt, bis die notwendigen Konzentrationen von 10 und 250 uE Insulin pro ml erreicht sind. Es werden ca. 10 ml Albuminpuffer (5) benötigt, denen vorher soviel Glukose beigegeben wird, daß sie einen Gehalt von 200 mg% besitzen.

Folgendes Verdünnungsschema kommt zur Anwendung:

0,1 ml der konz. Insulinausgangslösung (3) = 1 E
+ Gelatinepuffer ad 20 ml
davon 1 ml, + 3 ml Gelatinepuffer (I)
davon 0,1 ml, + Albuminpuffer ad 5 ml = 250 uE/ml

0,5 ml von (I), + Gelatinepuffer ad 12,5 ml
davon 0,1 ml, + Albuminpuffer ad 5 ml = 10 uE/ml

Am Vortage der ILA-Bestimmung werden bei 3 Probanden je ca. 10 ccm Venenblut entnommen. Das Blut wird innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme zentrifugiert, das Serum abgehebert und bei -20°C bis zum nächsten Tag eingefroren. Die Dauer des Eingefrorenseins scheint ohne Einfluß auf die Insulinaktivität zu sein.

Zur ILA-Bestimmung werden die Seren aufgetaut und mit gewöhnlichem KRB-Puffer 1:5 verdünnt (1,2 ml Serum auf 4,8 ml KRB-Puffer). Darauf wird enzymatisch die "wahre Glukose" in dem so verdünnten Serum bestimmt (s. Methode der Glukosebestimmung) und der Glukosegehalt auf 200 mg% ergänzt.

Mittels der 1:5-Verdünnung der Seren und der oben beschriebenen quantitativ bemessenen Zugabe von Albumin und Gelatine zu den Standardinsulinverdünnungen wird erreicht, daß

alle Medien die gleiche Pufferkapazität besitzen. Albumin und Gelatine stellen ein Äquivalent zu der Pufferkapazität der Serumeiweiße dar; sie ändern jedoch nicht - verglichen mit gewöhnlichem KRB-Puffer - die Insulinwirkung auf das Fettgewebe in bezug auf Glukoseaufnahme und Nettogasaustausch [31].

Vorbereiten des Warburgschen Apparates und der Inkubation.

Der Warburgsche Apparat (Braun Typ V/85) wird rechtzeitig eingeschaltet, so daß das Wasserbad beim Einsetzen der Gefäße die notwendige Temperatur von 37,5° C erreicht hat. Diese Temperatur wird während der Dauer der Inkubation mittels eines Thermostaten gehalten.

Elf Manometer und ebenso viele Warburggefäße werden der Reihe nach numeriert. Die Manometer enthalten Brodiesche Lösung (Sperrflüssigkeit nach Brodie für Warburg-Manometer [84]).

Die Gefäße 1 - 10 werden mit je 1 ml Serumverdünnung bzw. Insulinstandardlösung analog Skizze 1 gefüllt. Wie aus der Skizze 1 ersichtlich, werden alle Seren sowie die Insulinstandardlösungen doppelt bestimmt, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu erhöhen. Das Glas Nr. 11 wird mit 1 ml Gelatinepuffer ohne Insulinzusatz gefüllt.

Fünf reinrassige männliche Ratten des amerikanischen Stammes Spragoe-Gawlye mit einem Gewicht zwischen 120 und 180 g pro Ratte werden dekapitiert, nachdem sie 24 Stunden ohne Nahrung waren. Es wurde darauf geachtet, daß die pro Assay verwandten Tiere ungefähr gleich alt und schwer waren.

Gefäß Nr.	1 2	3 4	5 6	7 8	9 10	11
Inhalt:	10 uE pro ml Insulin-standardlösung	250uE pro ml Insulin-standardlösung	1. Serum	2. Serum	3. Serum	Gelatine-puffer

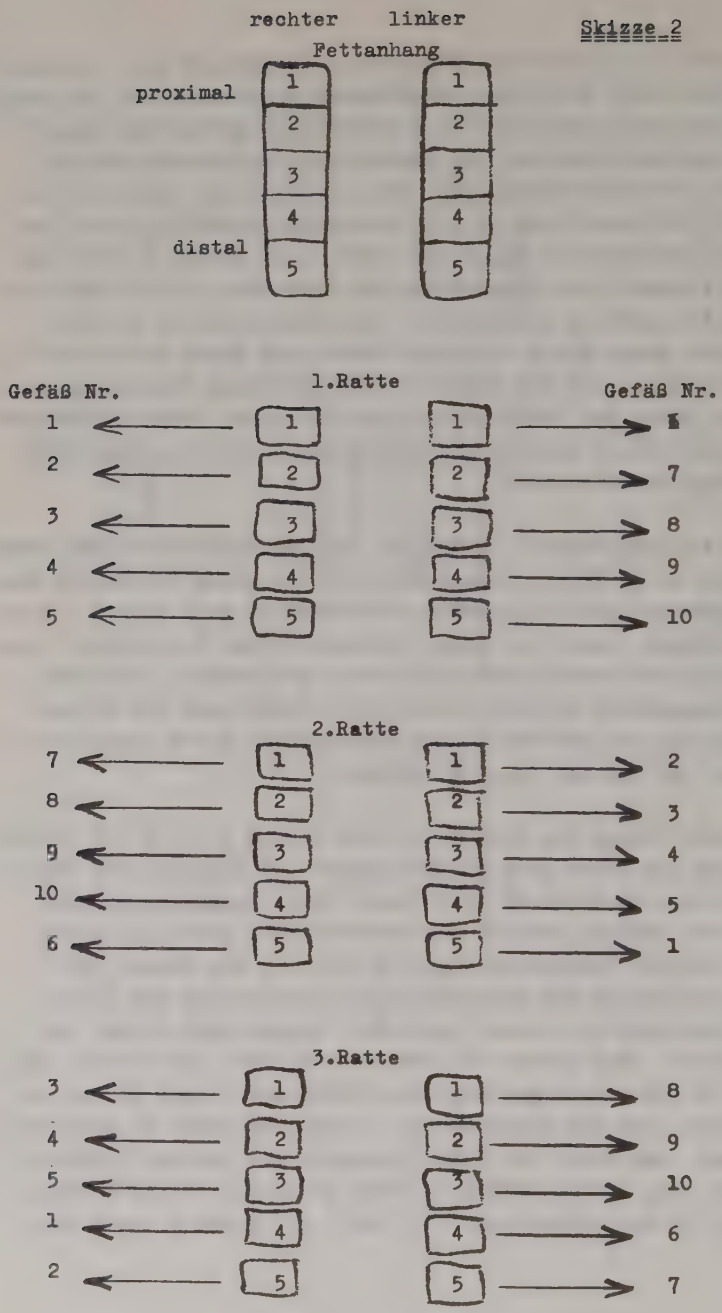
Skizze 1

Nachdem die Tiere der Reihe nach dekapitiert und "gewässert" worden sind, wird das Abdomen weit unten eröffnet und dann auf beiden Seiten entlang geschnitten, so daß die Bauchdecken nach oben auf den Thorax geklappt werden können. Dabei darf das epididymale Fettgewebe nicht verletzt werden. Der Hoden wird in die Bauchhöhle hinaufgeschoben und nach cranialwärts angehoben. Mit einer feinen Schere den ins Abdomen lose herabhängenden Fettzipfel distal des großen Blutgefäßes abschneiden. Den ganzen Zipfel in fünf gleich große Teile zerlegen. Dabei muß immer darauf geachtet werden, daß das Gewebe möglichst wenig traumatisiert wird. Wenn die Teile jedoch sehr in ihrer Größe differieren, müssen sie so sorgsam wie möglich mit weiteren Schnitten ausgeglichen werden.

Die Warburggefäße 1-10 werden hintereinander in einer Doppelreihe zu je fünf aufgestellt. Die aus jedem Fettzipfel entstandenen fünf Teile werden von cranial nach distal - entsprechend ihrer Anordnung im unzerteilten Fettzipfel - ausgelegt und darauf analog Skizze 2 gleichmäßig so in die Warburggefäße verteilt, daß jedes Gefäß Fett von allen fünf Ratten, von der linken und rechten Seite sowie proximale und distale Anteile bekommt.

Zuerst werden die fünf Teile des linken Zipfels der ersten Ratte der Reihe nach in die Gläser 1-5 gegeben, die Teile der rechten Seite in die Gläser 6-10. Danach werden die ersten Gläser jeder Reihe an deren Ende gestellt, sowie die Seiten vertauscht (vgl. Skizze 2). Nun werden die Fettstückchen der zweiten Ratte entsprechend der neuen Aufstellung der Gläser verteilt, danach wird wieder umgestellt, die Seiten vertauscht, das Fett der dritten Ratte in die Gläser gegeben usw. Dabei ist streng darauf zu achten, daß die Pinzette mit dem Medium nicht in Berührung kommt, und falls sie dies trotzdem tut, nachher abgespült wird. Die Gläser müssen am Ende so stehen wie am Anfang, d.h. in der Reihenfolge 1-5 und 6-10, wobei 1 und 6 die

Skizze 2


rechter
linker
Fettanhang
proximal
distal
1
2
3
4
5
1.Ratte
Gefäß Nr.
Gefäß Nr.
1 2 3 4 5
1 2 3 4 5
6 7 8 9 10
2.Ratte
7 8 9 10 6
1 2 3 4 5
2 3 4 5 1
3.Ratte
3 4 5 1 2
1 2 3 4 5
8 9 10 6 7
usw.

vorderen Gläser sind.

Dieses sog. "pooling", d.h. das Mischen der Fetteile untereinander, wird deswegen durchgeführt, weil die Ansprechbarkeit des Fettgewebes auf Insulin von Tier zu Tier etwas abweicht und weil auch die rechten und linken sowie die proximalen und distalen Fetteile nicht genau gleich aktiv sind [45].

Das Gewicht des Fettgewebes wird erhalten, indem die Gefäße vor und nach Zugabe des Fettes auf einer Ultramikrowaage gewogen werden. Die elf Gläser werden danach in den Warburgschen Apparat gehängt, sechs Minuten lang mit einem Gemisch von 95 % O_2 und 5 % CO_2 begast und danach zuerst oben (am Manometer) und dann am Kamin geschlossen. Nach weiteren fünf Minuten wird der Druck ausgeglichen durch Öffnen der Manometer nach außen und die Brodiesäulen auf 150 mm eingestellt. Das Herrichten der Gefäße bis zum Begasen dauert ca. 20 Minuten.

Im Warburgschen Apparat hängen die Gläser in einem Wasserbad von 37,5° C und werden mit einer Frequenz von 96/min und einer Amplitude von 6 cm geschüttelt. Nach dem Einstellen der Manometer auf 150 mm Brodie werden diese wieder geschlossen und zuerst zweimal im Abstand von 15 Minuten, danach halbstündlich die Manometerstände abgelesen und notiert. Die Dauer der Inkubation beträgt je nach Aktivität des Gewebes zwei bis drei Stunden. In dieser Zeit erreicht die Brodiesäule in den Manometern mit den hohen Insulinstandardlösungen in der Regel eine Höhe von 250 bis 300 mm.

Berechnung der Resultate

1) Nettogasaustausch.

Jedes Gefäß besitzt nach Maßgabe seines Volumens eine Gefäßkonstante, die sich aus folgender Formel errechnen läßt (Umbreit [83]):

$$(\text{Vol. Gefäß} + \text{Vol. Manometer}) \times 0{,}0881 = K'$$

Die effektive Gefäßkonstante K verändert sich, wenn Medium das Gasvolumen verringert, um

$$K' - (\text{Anzahl ml} \times 0{,}086) = K$$

Da in unserem Falle die Anzahl ml gleich 1 ist, also

$$K' - 0{,}086 = K$$

Diese Zahl berücksichtigt den CO_2-Gehalt von 5 % nicht und ist deshalb nicht vollständig richtig. In Bezug auf das vom Fettgewebe eingenommene Volumen wurde keine Korrektur vorgenommen, da die Menge des Gewebes innerhalb eines Versuches relativ konstant bleibt und das hiervon eingenommene Volumen klein ist im Verhältnis zum Gesamtvolumen des Gefäßes (durchschnittlich 15,0 ml) [30].

Am Ende der Inkubation nach zwei bis drei Stunden wird die während dieser Zeit im Manometer aufgetretene Druckdifferenz abgelesen (Abstand des rechten zum linken Schenkel der Brodieschen Lösung in mm). Zeigt auch das Manometer Nr. 11 eine Druckdifferenz an, so kann dies durch Barometerschwankungen im Versuchsraum bedingt sein. Da es keine Folge der Insulinwirkung ist (das Gefäß Nr. 11 enthält ja kein Insulin), wird dieser Ausschlag von dem der anderen zehn Manometer als Korrektur abgezogen. Die für jedes Manometer erhaltenen mm Brodie werden mit der Konstanten K multipliziert und durch das Fettgewebsgewicht dividiert. Mittels Division durch die Anzahl Stunden (Inkubationsdauer) erhält man den Nettogasaustausch in Mikroliter pro g Gewebe pro Stunde.

2) Glukoseaufnahme.

Nach dem Einfüllen der Ausgangslösungen in die Warburggefäße zu Beginn des Versuches wird der Rest dicht verschlossen und im Eiskasten bei 4° C bis zur Glukosebestimmung aufbewahrt. Zur Glukosebestimmung werden die Ausgangslösungen wieder auf Zimmertemperatur erwärmt und der Glukosegehalt enzymatisch zweifach bestimmt (siehe Methode der Glukosebestimmung). Auch nach der Inkubation wird von dem Inhalt eines jeden einzelnen Gefäßes die Glukose zweifach bestimmt. Die Differenz der Glukosemengen der Ausgangslösungen und der Lösungen nach Inkubation ergibt die Glukoseaufnahme durch das Fettgewebe während der Inkubationsdauer. Dieser Wert wird durch das Fettgewicht und die Anzahl Stunden (Dauer der Inkubation) dividiert und wir erhalten die Glukoseaufnahme in mg pro Gramm Gewebe pro Stunde.

Wie schon früher festgestellt, werden alle Insulinbestimmungen doppelt durchgeführt (vgl. Skizze 1), um die Genauugkeit der Resultate zu erhöhen. Es wird aus den Werten , die für jeweils zwei Gefäße mit dem selben Medium als Inhalt errechnet wurden, das arithmetische Mittel gebildet und dieser Mittelwert der Berechnung der ILA zugrunde gelegt.

Die sowohl für den Nettogasaustausch wie für die Glukoseaufnahme errechneten Mittelwerte werden auf semilogarithmisches Papier aufgetragen (s. Muster). Auf der Ordinate, die in einfachem Millimetermaßstab geteilt ist, wird der Nettogasaustausch in ul/g/Std. bzw. die Glukoseaufnahme in mg/g/Std. aufgetragen, auf der Abszisse in logarithmischem Maßstab die Insulinaktivität in uE/ml. Dann werden zunächst der Nettogasaustausch und die Glukoseaufnahme der Standardinsulinkonzentrationen (10 und 250 uE pro ml) in dieses Achsenkreuz eingetragen und miteinander verbunden (= Standardkurve). Anschließend werden die Wer-

te für die drei Seren auf der Standardkurve ermittelt und senkrecht dazu auf der Abszisse die zugehörige Insulinaktivität abgelesen.

Die abgelesenen Werte müssen noch mit fünf multipliziert werden, weil die Seren 1:5 verdünnt waren, und man erhält so für jedes Probandenserum sowohl auf Grund des Nettogasaustausches wie der Glukoseaufnahme einen ILA-Wert.

3. Methodik der Glukosebestimmung

Der Glukosegehalt der Seren und Lösungen wurde enzymatisch bestimmt unter Verwendung der entsprechenden Biochemica-Test-Kombination der Fa. Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim (Enzymatische Bestimmung von D-Glukose mit Hexokinase/Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, UV-Test mit TPN. Kennwort TC-X, Art.Nr. 15994).

Prinzip

Glukose wird in der durch Hexokinase katalysierten enzymatischen Reaktion durch ATP zu Glukose-6-Phosphat aufphosphoryliert.

$$\text{Glukose} + \text{ATP} \longrightarrow \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

Durch das Enzym Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) wird G-6-P unter Mitwirkung von TPN in 6-Phosphoglukonat überführt.

$$\text{G-6-P} + \text{TPN}^{+} \longrightarrow \text{6-PG} + \text{TPNH} + \text{H}^{+}$$

Die aus TPN entstehende TPNH-Menge ist äquivalent der G-6-P- bzw. der Glukosemenge. TPNH ist Meßgröße und wird auf Grund seiner Absorption bei 366 mu bestimmt.

Notwendige Reagenzien

1. Triäthanolamin-Hydrochlorid
2. Natriumcarbonat
3. Magnesiumsulfat
4. Triphosphopyridinnucleotid, TPN
5. Adenosin-5-triphosphat, Na-Salz, ATP
6. Hexokinase, HK
7. Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, G-6-PDH

Diese Reagenzien sind in der Biochemica-Test-Kombination für Glukose-Test mit TPN in den notwendigen Konzentrationen enthalten. Dazu 0,33 M Perchlorsäure (Merck Nr. 519) zum Enteiweißen.

Herstellung der Lösungen

1. Triäthanolaminpuffer (Puffer)
Inhalt der Flasche 1 der Bioch.Test-Komb. mit 80 ml bidest. Wasser lösen.
2. Triphosphopyridinnucleotid (TPN)
Inhalt der Flasche 2 mit 2 ml bidest. Wasser lösen.
3. Adenosin-5-Triphosphat (ATP)
Inhalt der Flasche 3 mit 2 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung lösen.
4. Hexokinase/G-6-P-Dehydrogenase (HK/G-6-PDH)
Inhalt der Flasche 4 unverdünnt verwenden.
5. Perchlorsäure
ca. 0,33 M
2,85 ml 70%ige Perchlorsäure mit bidest. Wasser auf 100 ml verdünnen.

Arbeitsweise

a) Enteiweißung.

In ein Zentrifugenglas nacheinander pipettieren:
1,00 ml Perchlorsäure (5)
0,10 ml Serum bzw. eiweißhaltige Lösung

Pipette durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen spülen, mit Plastikspatel gut mischen, 5-10 Minuten bei ca. 3000 U/min zentrifugieren. Überstand in trockenes Reagenzglas abgießen, 0,2 ml davon zum Test einsetzen.

b) Bestimmungsansatz.

In eine 10 mm-Küvette nacheinander pipettieren:

2,6 ml Puffer (1)
0,20 ml Überstand nach Enteiweißung
0,10 ml TPN (2)
0,10 ml ATP (3)

Mit Plastikspatel mischen und im Photometer (Photometer Eppendorf "Medeor") die Extinktion bei 366 mu ablesen (E_1). Dann mit Plastikspatel

0,02 ml HK/G-6-PDH (4)

einmischen, 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen und erneut Extinktion messen (E_2). Die Extinktionsdifferenz (E_2-E_1) = E geht in die Berechnung ein.

c) Berechnung.

Um den Glukose-Gehalt in ml der untersuchten Proben zu erhalten, ist die bei der Enteiweißung eingetretene Verdünnung zu berücksichtigen.

Serum und die von uns untersuchten albuminhaltigen Insulinlösungen enthalten ca. 90% ihres Gewichtes an Flüssigkeit; 1 ml Serum wiegt 1,030 g. Bei Einsatz von 0,100 ml Serum (= 0,103 g) ergibt die Enteiweißung 0,103 x 90/100 + 1 = 1,093 ml Extrakt. Davon werden 0,20 ml zum Test eingesetzt. Die Verdünnung ist 1,093/0,1 x 1/0,2 = 54,64. Die Umrechnung auf Glukose pro ml Serum erfolgt mit dem Faktor 54,64.

Die Reaktion verläuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Eine Extinktionsdifferenz von 0,100 entspricht (gemäß dem Extinktionskoeffizienten für TPNH) 0,0303 Mikromolen TPNH/ml, somit ebenso vielen Mikromolen Glukose/ml oder im Küvetteninhalt von 3,02 ml

0,0915 Mikromolen Glukose oder 16,47 ug.

Unter Berücksichtigung der Verdünnung mittels des oben errechneten Umrechnungsfaktors folgt:

E x 164,7 = ug Glukose in der Küvette

E x 898,7 = mg% Glukose im Serum.

Literatur: siehe im Literaturverzeichnis unter No. 71 und 75.

4. Statistische Auswertungsmethodik

Um festzustellen, ob die ILA-Werte beider Gruppen zufällig voneinander abwichen oder ob ein tatsächlicher, in der Auswahl der Fälle begründeter Unterschied vorlag, wurden die Meßergebnisse auf statistische Signifikanz geprüft. Dies geschah mittels des Rangtestes nach Wilcoxon für unverbundene Stichproben. Man geht dabei folgendermaßen vor:

Bei der Auswertung der ILA-Tabellen werden nicht die einzelnen Meßwerte benutzt, sondern es werden deren Rangnummern verwandt. D. h. es werden den ILA-Werten Rangnummern dergestalt zugeteilt, daß der kleinste Wert die Rangnummer 1, der zweitkleinste die Rangnummer 2, der drittkleinste die Rangnummer 3 usw. und der größte die letzte Nummer erhält. Haben mehrere Ergebnisse den gleichen Wert, dann werden an sie gleichermaßen der Mittelwert ihrer Rangzahlen vergeben. Z.B. trat in unserem Fall zweimal der Wert 170 uE auf. Statt der Rangnummern 11 und 12 erhalten beide den Mittelwert ihrer Rangzahlen, nämlich 11,5 (vgl. Tabelle 3, rechte Spalte). Die Numerierung erfolgt ohne Rücksicht darauf, welcher Gruppe der Wert zugehört.

Man bildet aus den Rangnummern der Gruppe mit der kleineren Fallzahl (hier der Atherosklerosegruppe) die Summe S_1. Zur Veranschaulichung soll folgendes Gedankenexperiment dienen:

Man schreibt sämtliche 46 Rangnummern auf Karten und wirft sie in einen Topf. Wenn man sehr oft 18 Karten aus diesem Topf entnähme und die Summe dieser zufällig

entnommenen Rangnummern bildete, würden, kombinatorisch bedingt, bestimmte Rangnummernsummen oft, andere selten, wieder andere sehr selten auftreten. Man prüft nun, ob die vorliegende Summe S_1 zu den selten auftretenden Summen gehört. Wenn dies der Fall ist, wird die Hypothese zufälliger Entnahme abgelehnt. Als selten bezeichnen wir hier das Auftreten in höchstens 1 % einer großen Zahl von Versuchen. 1 % ist damit die Irrtumswahrscheinlichkeit P, d.h. in 1 % verwerfen wir die Zufallshypothese, obwohl sie zutrifft.

Da in unserem Fall viele ILA-Werte in der Atherosklerosegruppe im Vergleich zu denen des Vergleichskollektivs hoch waren, erhielten sie hohe Rangnummern. Die Rangsumme S_1 fällt entsprechend hoch aus. Diese Rangsumme weicht so sehr von dem Erwartungswert der Rangsummen bei zufälliger Entnahme ab, daß ein Abweichen gleicher Größe nach oben oder unten in 5 % zufällig vorkommt. Dies ist nicht ganz so selten, aber immerhin statistisch auffällig.

Im einzelnen wird beim Wilcoxon-Test so vorgegangen:

Der nach der Zufallshypothese zu erwartende Wert für die Nummernsumme der ersten Gruppe ist

$$E_{S_1} = \frac{1}{2} n_1 (n_1 + n_2 + 1)$$

mit einer Standardabweichung von

$$s_{S_1} = \sqrt{\frac{n_2 \cdot E_{S_1}}{6}}$$

n_1 = Zahl der Fälle der 1. Gruppe
n_2 = Zahl der Fälle der 2. Gruppe
S_1 ist die tatsächliche Rangsumme.

Da sich die Verteilungen von Rangsummen bei einer größeren Zahl von Fällen der Normalverteilung nähern, dürfen wir einen Wert u errechnen aus

$$u = \frac{S_1 - E_{S_1}}{\sigma_{S_1}}$$

Die Irrtumswahrscheinlichkeit P kann mit Hilfe einer Tabelle der standardisierten Normalverteilung ermittelt werden.

Literatur: s. im Literaturverzeichnis unter No. 62.

5. Ergebnisse

Es wurden pro Fall zwei ILA-Werte ermittelt: einer auf Grund des Nettogasaustausches (NGA) und einer auf Grund der Glukoseaufnahme des Fettgewebes (vgl. Tab. 2 und 3, Spalte 6 und 7; im Anhang). Diese beiden Werte weichen zum Teil erheblich voneinander ab. Eine graphische Korrelationsdarstellung der Werte aus NGA und Glukoseaufnahme ergibt eine gewisse lineare Abhängigkeit, allerdings mit großer Streuung, besonders in den höheren Werten (Abb. 1 im Anhang). Eine bessere Annäherung an die 45°-Linie wird erreicht, wenn man die Logarithmen von ILA/NGA und ILA/Glukoseaufnahme aufträgt (Abb. 2). Wegen der teilweise erheblichen Unterschiede entschlossen wir uns, die vergleichenden Untersuchungen mit beiden ILA-Werten getrennt durchzuführen. Daneben bestimmten wir noch zusätzlich zum Vergleich mit den Werten aus der Literatur, wie von E. R. Froesch und Mitarbeiter empfohlen, das arithmetische Mittel aus den beiden ILA-Werten pro Fall (Tab. 2 und 3, Spalte 8).

In Abb. 3 sind die ILA-Werte für jeden einzelnen Fall dargestellt. Man sieht die relativ breite Streuung der Werte. Die arithmetischen Mittelwerte aus ILA/NGA und ILA/Glukoseaufnahme streuen von 61 bis 588 uE. Fast die selbe Spanne erhielten E.R. Froesch und Mitarbeiter bei 22 normalen Seren: 68 bis 587 uE [32]. Bottermann erhielt mit der selben Methode bei einem kleineren Kollektiv eine Spanne von 88 bis 345 uE [10].

Aus der Abb. 3 ist ferner zu erkennen, daß in der oberen Doppelreihe, bei den arithmetischen Mittelwerten aus ILA/NGA und ILA/Glukoseaufnahme, nur vier Atherosklerosefälle außerhalb des Normbereiches, d.h. des Streubereiches un-

seres Vergleichskollektivs, liegen. Diese vier Fälle (vgl. Tab. 3, Fall No. 4,9,15,16) imponieren beinahe als sog. statistische Ausreißer. Bei getrennter Betrachtung der ILA/NGA und der ILA/Glukoseaufnahme (Abb.3, mittlere und untere Doppelreihe) sind es jeweils sechs Fälle, die außerhalb des Streubereiches des Vergleichskollektivs liegen, wobei die vier Höchstwerte in allen drei Doppelreihen zu denselben Personen gehören. Eine Nachprüfung ergab keine strukturellen Besonderheiten dieser "Ausreißer".

In Abb. 4 sind die ILA-Durchschnittswerte von Atherosklerose und Vergleichskollektiv als Säulen gegenübergestellt. Die Durchschnittswerte der Atherosklerosegruppe liegen deutlich über denen des Vergleichskollektivs, wobei für die Differenz besonders die "Ausreißer" des Atherosklerosekollektivs verantwortlich sind. Der Durchschnittswert aus den arithmetischen Mitteln des Vergleichskollektivs (268 uE) liegt über dem von E.R. Froesch angegebenen "Normalwert" von 180 uE [32].

Mittels des Rangtestes nach Wilcoxon wird gezeigt, daß die ILA-Werte beider Gruppen statistisch auffällig voneinander abweichen (Irrtumswahrscheinlichkeit $P < 5\ \%$). Der Rangtest wurde dreifach durchgeführt: getrennt für die ILA-Werte aus NGA und Glukoseaufnahme sowie für die arithmetischen Mittel, jedesmal mit demselben Ergebnis (Tab. 4-6). Das Resultat des Rangtestes im Verein mit den Abb. 3 und 4 zeigt, daß bei der Atherosklerosegruppe eine Tendenz zu höheren ILA-Werten vorhanden ist. Beim Rangtest ist der tatsächliche Abstand der Ausreißerfälle vom übrigen Kollektiv der Atherosklerotiker belanglos, da ja lediglich die Rangfolge innerhalb des Kollektivs berücksichtigt wird.

Am Tag der Untersuchung wurde bei jedem Probanden der

Nüchternblutzucker enzymatisch bestimmt (die "wahre Glukose"). Die Ergebnisse zeigt Tab. 2 und 3, Spalte 5. Wie aus der Tab. 1 (im Text) hervorgeht, ist die "wahre Glukose" bei einem Teil der Probanden über die Norm erhöht (bei 95 mg% als obere Grenze der Norm), und zwar bei der Atherosklerosegruppe in der Hälfte der Fälle.

	Vergleichs-kollektiv	Athero-sklerose	Summe
Zahl der Fälle bis 95 mg%	22	9	31
Zahl der Fälle über 95 mg %	6	9	15
Summe	28	18	46

Tab. 1. Verteilung der Nüchternblutzuckerwerte bei Atherosklerose und Vergleichskollektiv.

Die Nüchternblutzuckerdurchschnittswerte der beiden Gruppen sind: 95 mg% (Atherosklerose) und 87,5 mg% (Vergleichskollektiv). Die vier Atherosklerosefälle mit der höchsten ILA zeigen allerdings keinen erhöhten Nüchternblutzucker, sie rangieren innerhalb des Kollektivs eher bei den niedrigen Blutzuckerwerten. Graphisch läßt sich auch in dem vorliegenden engen Schwankungsbereich unserer Nüchternblutzuckerwerte keine Beziehung zwischen Nüchternblutzucker und ILA feststellen (Abb. 5 und 6).

Für jeden Fall wurde der Quotient aus tatsächlichem Körpergewicht und Idealgewicht gebildet, wobei letzteres den

Wissenschaftlichen Tabellen Geigy 1960 [35] entnommen wurde (Tab. 2 und 3, Spalte 4). Wie schon beim Nüchternblutzucker, liegt auch der durchschnittliche Gewichtsindex der Atherosklerosegruppe (1,065) etwas über dem des Vergleichskollektivs (1,030).

Die Abb. 7 - 13 bringen Korrelationsdarstellungen der verschiedenen Größen, nämlich ILA, Nüchternblutzucker, Gewichtsindex und Alter in den möglichen Kombinationen, ohne daß eine eindeutige Beziehung zwischen den genannten Größen zu erkennen ist.

IV. Diskussion

Die Tatsache, daß bei unserem atherosklerotischen Krankengut eine Tendenz zu höheren Plasma-ILA-Werten vorhanden ist, läßt vermuten, daß bei einem Teil dieser Patienten bereits eine Störung im Kohlehydratstoffwechsel vorliegt, ohne daß eine wesentliche Hyperglykämie besteht oder eine Glukosurie vorhanden ist. Peters und Hales fanden ebenfalls eine signifikant erhöhte ILA bei Postinfarktpatienten [61], und Nikkilä erhielt bei einem solchen Krankengut abnorm hohe Anstiege der ILA nach Glukosebelastung [60]. Andere Autoren haben schon früher auf die Möglichkeit hingewiesen, bei Atherosklerotikern mittels Stoffwechselbelastungstesten eine diabetogene Stoffwechsellage aufzudecken [11, 24,65,72,76,89,90]. Von sechs bei unserem atherosklerotischen Kollektiv durchgeführten Tolbutamidtesten weisen vier einen latent diabetischen Kurvenverlauf auf. Auch die Tatsache, daß die Hälfte unserer Atherosklerotiker eine leichte Hyperglykämie aufweist, ist wohl in diesem Sinne zu werten. Der durchschnittliche Nüchternblutzucker ist überdies höher als beim Vergleichskollektiv, ein Befund, wie er von Braunsteiner in einer ähnlichen Untersuchung bestätigt wird [11].

Die daraus abzuleitende Konsequenz, bei den Atherosklerosepatienten mit besonders hoher ILA auch einen erhöhten Blutzucker zu erwarten, trifft allerdings in unserem Falle nicht zu, sondern die vier Atherosklerosefälle mit der höchsten ILA rangieren innerhalb des Kollektivs eher bei den niedrigen Blutzuckerwerten. Nun sind Normo- oder Hypoglykämien im Frühstadium der Zuckerkrankheit keine Seltenheit. Dies ist wohl auch mit die Ursache dafür, daß graphisch keine Beziehung zwischen unseren ILA- und Nüchternblutzuckerwerten nachzuweisen ist.

Es muß natürlich beim Vergleich der untersuchten Kollektive berücksichtigt werden, daß beide Kollektive bezüglich Alter und Gewicht differieren, und diese Unterschiede zumindest partiell für die von uns festgestellten unterschiedlichen Befunde verantwortlich sind

Besonders die Häufigkeit von Hypoglykämien während der Frühmanifestation der Zuckerkrankheit ließ vermuten, daß relativ hohe Spiegel zirkulierenden Insulins im Blut ein Charakteristikum des Frühdiabetes sein können. Eine erhöhte Plasma-ILA wurde auch bei Personen, die aus genetischen Gründen als Prädiabetiker zu bezeichnen sind, angetroffen. So fanden Camerini-Dávalos und Mitarbeiter mit der Fettgewebsmethode bei Prädiabetikern eine durchschnittliche ILA von 688 uE/ml gegenüber 364 uE/ml bei normalen Personen. Das Ergebnis unserer Untersuchung unterstreicht somit die Möglichkeit, daß das atherosklerotische Leiden mit dem Stoffwechselbild des Prädiabetes zusammenfällt. Desgleichen wird die Hypothese gestützt, daß der subklinische ebenso wie der manifeste Diabetes zu atherosklerotischen Gefäßveränderungen prädisponiert [48].

Die übermäßige Insulinproduktion bei nicht wesentlich verändertem Blutzuckerspiegel läßt folgende Möglichkeiten einer Erklärung zu:

1. Die biologische Wirksamkeit des am isolierten Rattengewebe bestimmten Insulin ist in vivo herabgesetzt.

2. Die Stoffwechselwirkung des gemessenen Insulin wird durch Insulinantagonisten blockiert.

3. Die Gewebe sind gegenüber dem ausgeschütteten Insulin unempfindlich, insbesondere im Hinblick auf die Glukoseverwertung.

Für jede dieser Möglichkeiten sind aus der Literatur

Hinweise zu erhalten. Wichtig ist die Tatsache, daß die mit der Fettgewebsmethode gemessene ILA nicht einheitlicher Natur ist. So kann ein Teil der Insulinwirkung am Fettgewebe durch Antiinsulinserum inhibiert werden, der andere Teil nicht [29,69]. Die normalen oder erhöhten Insulinspiegel, wie sie oft im Serum von sog. Altersdiabetikern gefunden werden, ließen vermuten, daß hier besonders der fettgewebswirksame Anteil vermehrt ist, was die Fettsucht und fehlende Ketoseneigung dieser Diabetesform erklären würde [59].

An Plasmaalbumin gebundene Antagonisten heben die Insulinwirkung auf das Rattenzwerchfell und damit auf die Muskulatur auf, während die Wirksamkeit am Fettgewebe nicht beeinträchtigt wird [87]. Hier scheint eine Parallele zu dem durch Antikörper hemmbaren Insulin vorzuliegen. Zu den Substanzen, die sich funktionell gegenüber Insulin antagonistisch verhalten, gehören gewisse Hormone, insbesondere Glukagon, Adrenalin und das Wachstumshormon des Hypophysenvorderlappens.

Die dritte Möglichkeit, den Hyperinsulinismus bei diabetischen oder prädiabetischen Zuständen zu erklären, besteht in der Annahme einer peripheren Insulinresistenz. Sind nicht schon die normalerweise vorhandenen großen Abweichungen der ILA innerhalb eines gesunden Kollektivs Zeichen für eine unterschiedliche Insulinempfindlichkeit? Der physiologische Stimulus für die Insulinsekretion ist die Hyperglykämie. Der Gesunde reagiert auf eine perorale Glukosegabe mit einem kurzdauernden Anstieg seines Plasmainsulins. Bei der Mehrzahl der Altersdiabetiker ist der Anstieg verzögert, hält dann aber länger an und erreicht schließlich höhere Werte als beim Normalen. Anreiz für die überschießende Insulinproduktion ist wohl die anhaltende Hyperglykämie, diese wiederum ist bedingt durch die Unfähigkeit der Peripherie, auf das Insulinangebot mit einer Blutzuckersenkung zu antworten [5].

Möglicherweise spielt bei der peripheren Insulinresistenz der Gehalt des Plasma an freien Fettsäuren (FFS) eine Rolle. Dafür spricht die Tatsache, daß bei Zuständen, die mit erhöhtem FFS-Spiegel im Blut einhergehen, wie Adipositas oder Überproduktion von Wachstumshormon, die Plasmainsulinkonzentration erhöht ist bzw. nach Glukosebelastung auf abnorm hohe Werte ansteigt, auch wenn kein diabetischer Zustand vorliegt [40,46].

Insulin senkt, im Gegensatz zum Wachstumshormon, den FFS-Spiegel im Plasma [6]. Es ist durchaus vorstellbar, daß in den Frühstadien der diabetischen Erkrankung eine normale Glukosetoleranz durch einen kompensatorischen Hyperinsulinismus aufrechterhalten wird; die in späteren Stadien auftretenden niederen Insulinspiegel könnten dann die Folge einer Erschöpfung des Inselapparates sein.

Ein relativer oder absoluter Insulinmangel führt ohne weiteres zu den typischen diabetischen Gefäßveränderungen, wie tierexperimentelle Untersuchungen von Bloodworth gezeigt haben [7]. Manche Autoren messen den Insulinantagonisten bei der Entstehung von diabetischen Gefäßkomplikationen besondere Bedeutung bei [85]. Bei jugendlichen Diabetikern mit arteriellen Komplikationen (Retinopathie und/oder Nephropathie) fanden sich mehr Insulinantagonisten im Blut als bei jugendlichen Diabetikern ohne solche Komplikationen [9]. Auch bei Myocardinfarktpatienten konnten vermehrt an Plasmaalbumin gebundene Insulinantagonisten nachgewiesen werden [86].

Der Beweis, daß Insulin selbst oder einer seiner etwaigen Begleitstoffe die Angiopathieentstehung fördere, ist nicht erbracht [57], wenn auch einige Autoren im Tierversuch einen unmittelbaren Einfluß von Insulin auf die Entwicklung atherosklerotischer Gefäßveränderungen nachweisen konnten [77]. Bei gesunden Hähnen nämlich, die durch Füttern mit cholesterinhaltiger Nahrung atherosklerotisch ge-

macht worden waren, konnte der Rückgang der Coronarsklerose nach Absetzen des Cholesterinöls durch Insulingabe verhindert werden. Bei den Kontrolltieren bildeten sich die coronarsklerotischen Veränderungen nach Absetzen der Diät innerhalb von 14 Tagen zurück, die Aortenveränderungen blieben in der kurzen Zeit bestehen. Insulingabe während der Atheroskleroseinduktion hatte keinen Einfluß auf die Entwicklung der Gefäßveränderungen.

C. ZUSAMMENFASSUNG und SCHLUSS

Ausgedehnte Untersuchungen an atherosklerotischem Krankengut, besonders auch an Postinfarktpatienten, die bei einem Großteil dieser Patienten mittels Stoffwechselbelastungstesten oder anderen diabetischen Suchtesten eine diabetogene Stoffwechsellage aufdecken konnten, haben die diabetische Krankheit mit ihren verschiedenen Vorstadien in den Mittelpunkt der Diskussion um die Entstehung atherosklerotischer Gefäßprozesse gerückt. In diesem Zusammenhang war es das besondere Ziel unserer eigenen Arbeit, die Plasmainsulinverhältnisse bei einem definierten atherosklerotischen Krankengut zu untersuchen.

Wir benutzten hierzu die Methodik nach E.R. Froesch, H. Bürgi, E.B. Ramseier, P. Bally und A. Labhart, bei der Serumproben in ihrer Stoffwechselwirkung auf Fettgewebe mit bekannten Insulinmengen verglichen werden und die somit gestattet, die Insulinaktivität im Serum, genauer: die "insulin like activity = ILA" zu messen. Dabei zeigte sich, daß die Atherosklerosegruppe (18 Fälle) gegenüber einem Vergleichskollektiv aus 28 klinisch Stoffwechselgesunden eine Tendenz zu höheren ILA-Werten aufweist. Die Prüfung auf statistische Signifikanz mittels des Rangtestes nach Wilcoxon ergab einen statistisch auffälligen Unterschied für die ILA-Werte beider Kollektive (Irrtumswahrscheinlichkeit $P < 5\ \%$).

Eine solche Neigung zu höheren ILA-Werten ist charakteristisch für den sog. Altersdiabetes, wird aber auch bei frühdiabetischen Zuständen und bei genetisch determinierten Prädiabetikern gefunden. Weitere mögliche Anhalts-

punkte für eine diabetische Stoffwechsellage innerhalb des atherosklerotischen Krankengutes sind der etwas höhere durchschnittliche Gewichtsindex und der höhere durchschnittliche Nüchternblutzucker (enzymatisch bestimmte "wahre Glukose"). In vier Fällen war ein pathologischer Tolbutamidtest gesichert.

Der vorhandene Altersunterschied zwischen den beiden Kollektiven gibt Veranlassung, die gefundenen Kriterien als partiell durch das höhere Alter der Atherosklerotiker bedingt anzusehen. In jedem Fall möchten wir sie als Bestandteil einer beginnenden diabetischen Symptomatik werten. Das Ergebnis unserer Untersuchung unterstreicht somit die These, daß der diabetischen Krankheit und - da abgesehen von einer in einzelnen Fällen vorhandenen Neigung zur Hyperglykämie eine ausgeprägte klinische diabetische Symptomatik fehlt - insbesondere auch den subklinisch verlaufenden diabetischen Vorstadien bei der polyätiologischen Entstehung von atherosklerotischen Gefäßprozessen eine beachtliche Bedeutung zukommt.

L I T E R A T U R

1. Azerad,E., J. Lubetzki, P. Samarcq, J.C. Morard.
   5. Kongreß der Intern. Diab.-Föd., Toronto 1964.

2. Ball,E.G., M.A. Merrill: A manometric assay of insulin and some results of the application of the method to sera and islet-containing tissues.
   Endocrinology 69,596 (1961).

3. Beigelman,P.M.: Insulin-like activity of normal and diabetic human serum.
   Diabetes 8,29 (1959).

4. Berson,S.A., R.S. Yalow: Insulin inhibitors and insulin resistance.
   N.Y. St. J. Med. 60,3658 (1960).

5. Berson,S.A., R.S. Yalow: Some current controversies in diabetic research.
   Diabetes 14, 553 (1965).

6. Berson,S.A., R.S. Yalow: Some current controversies in diabetic research.
   Diabetes 14, 559 (1965).

7. Bloodworth jr.,J.M.B.; Experimental diabetic glomerulosclerosis.
   Arch.Path. 79, 113 (1965).

8. Bloodworth jr.,J.M.B., R. Engerman.
   5. Kongreß der Intern. Diab.-Föd., Toronto 1964.

9. Bornstein,J., D. Hyde: Insulin antagonists in blood of juvenile diabetics with arterial disease.
   Diabetes 8, 92 (1959).

10. Botterman,P., K. Schwarz, K. Kopetz: Über das Verhalten der insulinähnlichen Aktivität im Serum bei der Fettsucht.
    Dtsch. med. Wschr. 90, 918 (1965).

11. Braunsteiner,H., R. di Pauli, S. Sailer, F. Sandhofer: Myocardinfarkt und latent diabetische Stoffwechsellage.
    Klin.Wschr. 43, 585 (1965).

12. Brunner,D., S. Altman, L. Nelken, J. Reider: The relative absence of vascular disease in diabetic Yemenite Jews.
    I. A study of clinical findings.
    Diabetes 13, 268 (1964).

13. Brunner,D., K. Loebl, S. Altman, L. Nelken, J. Reider: The relative absence of vascular disease in diabetic

Yemenite Jews. II. An analysis of Lipid patterns.
Diabetes 13, 273 (1964).

14. Bürger,M.: Angiopathia diabetica.
Thieme-Verlag Stuttgart 1954, S.4.

15. dto. S. 5.

16. dto. S. 11-14.

17. dto. S. 182.

18. Cahill jr.,G.F., B. Leboeuf, R.B. Flinn: Studies on rat adipose tissue in vitro. VI. Effect of epinephrine on glucose metabolism.
J.biol.Chem. 235, 1246 (1960).

19. Camerini-Dávalos, R.A., J.B. Caulfield, S.B. Rees et al.: Preliminary observations on subjects with prediabetes.
Diabetes 12, 508 (1963).

20. Cohen,A.M., E. Shafrir.
5. Kongreß der Intern. Diab.-Föd., Toronto 1964.

21. Ditschuneit,H., C-S. Ahn, M. Pfeiffer, E.F. Pfeiffer: Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glukose.
Klin.Wschr. 37, 1234 (1959).

22. Ellenberg,M.; Diabetic complications without manifest diabetes.
J.Amer.med.Ass. 183, 926 (1963).

23. dto. S. 929.

24. Fabrykant,M., M.L. Gelfand: Symptom-free Diabetes in angina pectoris.
Amer.J.med.Sci. 247, 665 (1964).

25. Froesch,E.R.: Pers. Mitt. (im Druck).

26. Froesch,E.R., P. Bally, U. Guhl, E.B. Ramseier, A. Labhart: Die Wirkung des Glukagons auf das Fettgewebe.
Schweiz.med.Wschr. 90, 1329 (1960).

27. Froesch,E.R., H. Bürgi, A. Labhart: Insulinaktivität im Blut bei Patienten mit Diabetes melitus.
Praxis 53, 181 (1964).

28. Froesch,E.R., H. Bürgi, W.A. Müller, A. Labhart: Mit Antiinsulinserum hemmbare und nicht-hemmbare Insulinaktivität im menschlichen Serum.
Schweiz.med.Wschr. 94, 309 (1964).

29. Froesch,E.R., H. Bürgi, E.B. Ramseier, P. Bally, A. Labhart: Antibody-suppressible and nonsuppressible insulin-like activities in human serum and their physiologic significance. An insulin assay with adipose

tissue of increased precision and specificity.
J.clin.Invest. 42, 1816 (1963).

30. dto. S. 1817.

31. dto. S. 1819.

32. dto. S. 1824.

33. Froesch,E.R., J. Ginsberg: Fructose metabolism of adipose tissue. I. Comparison of fructose and glucose metabolism in epididymal adipose tissue of normal rats.
J.biol.Chem. 237, 3317 (1962).

34. Fukui,I., H. Yoshida.
5. Kongreß der Intern. Diab.-Föd., Toronto 1964.

35. Geigy: Wiss. Tab. Herausgegeben von der Pharmazeutischen Abteilung der Fa. Geigy, Basel 1960, S. 588.

36. Glatzel,H.: Fettverzehr und Plasmacholesterin - Koronarkrankheit. Eine epidemiologische Dokumentation.
Arch.Kreisl.-Forsch. 43, 250 (1964).

37. Glatzel,H.: Fettverzehr und Plasmacholesterin - Koronarsklerose. Die Ergebnisse der Epidemiologie.
Z.Kreisl.-Forsch. 53, 416 (1964).

38. Goth,A.
5. Kongr. der Intern. Diab.-Föd., Toronto 1964.

39. Grodsky,G.M., P.H. Forsham: An immunochemical assay of total extractable insulin in man.
J.clin.Invest. 39, 1070 (1960).

40. Grodsky,G.M., J.H. Karam, F.C. Pavlatos et al.: Serum-insulin response to glucose in prediabetic subjects.
Lancet 1965/I, 290.

41. Groen,J., A.F. Willebrands, H.G. van der Geld, R.E. Bolinger: Determination of serum insulin in patients with islet cell tumours of the pancreas. Ciba Found. Colloq.
Endocrinology 12, 255 (1958).

42. Hoet,J.J.
Vortrag Diabetes-Symposion , Genf 1963.

43. Humbel,R.E.: Messung der Serum-Insulin-Aktivität mit epididymalem Rattenfettgewebe in vitro.
Experientia (Basel) 15, 256 (1959).

44. Jeanrenaud,B.: Dynamic aspects of adipose tissue metabolism: a review.
Metabolism 10, 538 (1961).

45. dto. S. 540.

46. Karam,J.H., et al.: Excessive insulin response to glucose in obese subjects as measured by immunochemical assay. Diabetes 12, 197 (1963).

47. Kipnis,D.M., E. Helmreich, C.F. Cori: Studies on tissue permeability. IV. The distribution of glucose between plasma and muscle. J.biol.Chem. 234, 165 (1959).

48. Knick,B., F. Rother et al. 5. Kongr. der Intern. Diab.-Föd., Toronto 1964.

49. Leboeuf,B., G.F. Cahill jr.: Studies on rat adipose tissue in vitro. VIII. Effect of preparations of pituitary adenocorticotropic and growth hormones on glucose metabolism. J.biol.Chem. 236, 41 (1961).

50. Lyngsøe,J.: Bestimmung der insulinähnlichen Aktivität im Serum am epididymalen Fettanhang der Ratte. I. Normalwerte in unverdünntem und verdünntem Serum; Effekt von Glukosezugabe. Acta med. Scand. 171, 365 (1962).

51. Martin,D.B., A.E. Renold, Y.M. Dagenais: An assay for insulin-like activity using rat adipose tissue. Lancet 2, 76 (1958).

52. Mehnert,H.: Prädiabetes. Dtsch.med.Wschr. 89, 688 (1964).

53. Mohnike,G.: Gefäßkomplikationen beim Diabetes melitus. Dtsch.med.J. 14, 753 (1963).

54. dto. S. 754.

55. dto. S. 755.

56. dto. S. 756.

57. dto. S. 757.

58. dto. S. 758.

59. Müller,R.: Pathogenetische Überlegungen zum Problem Diabetes und Insulin im Blut. Z.ärztl.Fortbild. (1963) Heft 9, S. 632 und 633.

60. Nikkilä,E.A., et al.: Plasmainsulinkonzentration nach Myocardinfarkt. Lancet 1965/II, 508.

61. Peters,N., C.N. Hales: Plasma-insulin concentrations after myocardial infarction. Lancet 1965/I, 1144.

62. Pfanzagl,J.: Allgemeine Methodenlehre der Statistik, Band II, S. 270 und 271. Göschen-Bd. 747/747a.

63. Pfeiffer,E.F., M. Pfeiffer, H. Ditschuneit, C-S. Ahn: Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glukose. Klin.Wschr. 37, 1239 (1959).

64. Randle, P.J.; Insulin in blood. Ciba Found. Colloq. Endocrinology 11, 115 (1957).

65. Reaven,G., A. Calciano, R. Cody, C. Lucas, R. Miller: Carbohydrate intolerance and hyperlipemia in patients with myocardial infarction without known diabetes melitus. J.clin.Endocr. 23, 1013 (1963).

66. Renold,A.E., J. Ashmore, B.A. Hastings: Regulation of carbohydrate metabolism in isolated tissues in Vitamins and Hormones. Academic Press, New York 1956, S. 139.

67. Renold,A.E., O.B. Crofford, W. Staffacher, B. Jeanrenaud: Hormonal control of adipose tissue metabolism, with special reference to the effects of insulin. Diabetologia 1, 4 (1965).

68. Renold,A.E., D.B. Martin, Y.M. Dagenais, J. Steinke, R.J. Nickerson, M.C. Sheps: Measurement of small quantities of insulin-like activity using rat adipose tissue. I. A proposed procedure. J.clin.Invest. 39, 1487 (1960).

69. Samaan,N., R. Fraser, W.J. Dempster: The "typical" and "atypical" forms of serum insulin. Diabetes 12, 339 (1963).

70. Schettler,G.: Arteriosklerose. Thieme-Verlag, Stuttgart 1961. S. 400.

71. Schmidt,F.H.: Die enzymatische Bestimmung von Glukose und Fruktose nebeneinander. Klin.Wschr. 39, 1244 (1961).

72. Schrade,W., E. Boehle, R. Biegler: Humoral changes in arteriosclerosis. Investigations on lipids, fatty acids, ketone bodies, pyruvic acid, lactic acid, and glucose in the blood. Lancet 2, 1409 (1960).

73. Seltzer,H.S., W.L. Smith: Plasma insulin activity after glucose. An index of insulogenic reserve in normal and diabetic man. Diabetes 8, 417 (1959).

74. Sheps,M.C., R.J. Nickerson, Y.M. Dagenais, J. Steinke, D.B. Martin, A.E. Renold: Measurement of small quantities of insulin-like activity using rat adipose tissue. II. Evaluation of performance. J.clin.Invest. 39, 1499 (1960).

75. Slein,M.W., G.T. Cori, C.F. Cori: Comparative study of hexokinase from yeast and animal tissues.
J.biol.Chem. 186, 763 (1950).

76. Sowton,E.: Cardiac infarction and the glucose-tolerance test.
Brit.med.J. 1, 84 (1962).

77. Stamler,J., R. Pick, L.N. Katz: Effect of insulin on the induction and regression of atherosclerosis in the chick.
Circulat. Res. 8, 572 (1960).

78. Steelman,S.L., R. Oslapas, R.D. Busch: An improved in vitro method for determination of serum "insulin-like" activity.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 105, 595 (1960).

79. Steinke,J., R. Camerini-Dávalos, A. Marble, A.E. Renold: Elevated levels of serum insulin-like activity in early untreated diabetes and prediabetes.
Metabolism 10, 707 (1961).

80. Steinke,J., J.S. Soeldner, R.A. Camerini-Dávalos, A.E. Renold: Studies on serum insulin-like activity in prediabetes and early overt diabetes.
Diabetes 12, 502 (1963).

81. Strandness jr.,D.E., R.E. Priest, G.E. Gibbons: Combined clinical and pathologic study of diabetic and nondiabetic peripheral arterial disease.
Diabetes 13, 366 (1964).

82. Taylor,K.W., P.J. Randle: The effect of insulin antiserum on the insulin activity of serum and protein fractions of serum.
J.Endocr. 19, 221 (1959).

83. Umbreit,W.W., R.H. Burris, J.F. Stauffer: Manometric Technics and Related Methods for the Study of Tissue Metabolism.
Minneapolis, Burgess (1964), S. 60.

84. dto. S. 63.

85. Vallance-Owen,J.: Fortschritte der Diabetesforschung.
1. Symposion Düsseldorf, Stuttgart 1963, S. 10.

86. Vallance-Owen,J., W.L. Ashton: Cardiac infarction and insulin antagonism.
Lancet 1963/I, 1226.

87. Vallance-Owen,J., Elizabeth Dennes, P.N. Campbell: The nature of the insulin-antagonist associated with plasma-albumin.
Lancet 2, 696 (1958).

88. Vallance-Owen,J., B. Hurlock: Estimation of plasmainsulin by the rat diaphragm method.

Lancet 1, 68 (1954).

89. Waddell,W.R., R.A. Field: Carbohydrate metabolism in atherosclerosis.
Metabolism 9, 800 (1960).

90. Wahlberg,F.: The intravenous glucose tolerance test in atherosclerotic disease with special reference to obesity, hypertension, diabetic heredity and cholesterol values.
Acta med.Scand. 171, 1 (1962).

91. Weissel,W.: Glukosetoleranz und Tolbutamidwirkung bei erhöhtem Serumcholesterin.
Wien.Zschr.inn.Med. 45, 191 (1964).

92. Willebrands,A.F., H. van der Geld, J. Groen: Determination of serum insulin using the isolated rat diaphragm. The effect of serum dilution.
Diabetes 7, 119 (1958).

93. Winegrad,A.I., A.E. Renold: Studies on rat adipose tissue in vitro. I. Effects of insulin on the metabolism of glucose, pyruvate, and acetate.
J.biol.Chem. 214, 267 (1958).

94. Winegrad,A.I., W.N. Shaw, F.D.W. Lukens, W.C. Stadie, A.E. Renold: Effects of growth hormone in vitro on the metabolism of glucose in rat adipose tissue.
J.biol.Chem. 234, 1922 (1959).

95. Wright,P.H.; Plasma-insulin estimation by the rat diaphragm method.
Lancet 2, 621 (1957).

96. Yalow,R.S., S.A. Berson: Immunoassay of endogenous plasma insulin in man.
J.clin.Invest. 39, 1157 (1960).

Tabelle 2

Vergleichskollektiv (28 Fälle)

Spalte	1	2	3	4	5	6	7	8
Fall Nr.	Alter	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Istgew. / Sollgew.	Nücht. blut-zucker (mg%)	Plasmainsulinaktivität (uE/ml) ILA-NGA	ILA-Gluk.aufn.	Arithm. Mittel
1	41 J.	179	84,0	1,140	96	175,0	70,0	122,0
2	57 J.	178	72,2	0,992	104	345,0	110,0	227,0
3	62 J.	165	64,2	1,020	75	495,0	340,0	417,0
4	23 J.	178	78,0	1,072	85	170,0	102,5	136,0
5	30 J.	183	86,5	1,120	93	170,0	170,0	170,0
6	17 J.	180	74,7	1,002	90	540,0	75,0	307,0
7	42 J.	173	69,5	1,005	92	305,0	385,0	345,0
8	20 J.	172	55,4	0,812	98	105,0	29,0	67,0
9	24 J.	185	80,0	1,012	94	200,0	135,0	167,0
10	64 J.	167	59,3	0,921	79	180,0	125,0	152,0
11	33 J.	173	73,6	1,065	94	495,0	380,0	437,0
12	51 J.	171	77,0	1,143	69	130,0	97,5	113,0
13	52 J.	169	69,5	1,058	76	480,0	280,0	380,0
14	58 J.	176	87,7	1,230	68	122,5	82,5	102,5
15	26 J.	178	75,5	1,038	80	300,0	232,5	266,0
16	57 J.	170	89,8	1,348	81	180,0	260,0	220,0
17	60 J.	160	63,0	1,044	80	125,0	190,0	157,0
18	31 J.	172	61,0	0,894	96	93,0	62,5	77,5
19	32 J.	172	66,0	0,967	82	57,0	64,0	61,0
20	79 J.	155	58,5	1,028	82	83,0	105,0	94,0
21	25 J.	175	71,0	1,006	86	255,0	550,0	403,0
22	55 J.	165	59,2	0,939	94	625,0	440,0	533,0
23	50 J.	180	81,1	1,090	100	590,0	445,0	518,0
24	24 J.	192	80,5	0,945	80	600,0	575,0	588,0
25	27 J.	180	72,0	0,967	108	510,0	395,0	453,0
26	29 J.	184	77,5	0,993	94	500,0	420,0	460,0
27	48 J.	179	75,0	1,020	87	325,0	480,0	403,0
28	17 J.	163	56,0	0,905	87	150,0	87,0	119,0
	41 J.	174	72,1	1,030	87,5	299,0	239,0	268,0
		Durchschnittswerte der Gruppe						

Tabelle 3. Atherosklerosekollektiv (18 Fälle)

Fall Nr.	Diagnose	Spalte: 1 Alter	2 Größe (cm)	3 Gewicht (kg)	4 Istgew./Sollgew.	5 Nücht. blutzucker (mg%)	6 Plasmainsulinaktivität (uE/ml) ILA-NGA	7 ILA-Gluk.aufn.	8 Arithm. Mittel	9 Tolbutamidtest
1	Myocardinfarkt	54 J.	165	58,5	0,928	92	470,0	450,0	460,0	
2	Verschlußkrankheit	49 J.	173	74,5	1,079	95	255,0	255,0	255,0	pathologisch
3	Myocardinfarkt	55 J.	171	105,0	1,560	96	665,0	450,0	558,0	pathologisch
4	Allgem.Atherosklerose	66 J.	178	62,5	0,859	84	2560,0	2700,0	2630,0	
5	Apoplexie	70 J.	162	72,0	1,172	106	385,0	150,0	268,0	pathologisch
6	Verschlußkrankheit	70 J.	164	48,0	0,768	81	795,0	275,0	535,0	
7	Verschlußkrankheit	54 J.	173	83,6	1,211	84	270,0	340,0	305,0	
8	Myocardinfarkt	75 J.	170	82,0	1,232	74	570,0	300,0	435,0	
9	Coronarsklerose	53 J.	167	67,7	1,053	75	1200,0	1300,0	1250,0	normal
10	Verschlußkrankheit	67 J.	181	68,0	0,902	115	320,0	230,0	275,0	pathologisch
11	Myocardinfarkt	56 J.	172	75,0	1,099	100	63,0	70,0	67,0	
12	Verschlußkrankheit	57 J.	170	60,0	0,914	91	182,0	160,0	171,0	normal
13	Myocardinfarkt	54 J.	178	57,5	0,790	105	260,0	650,0	455,0	
14	Myocardinfarkt	56 J.	162	82,5	1,345	105	173,0	610,0	392,0	
15	Myocardinfarkt	58 J.	163	60,0	0,970	83	925,0	1200,0	1063,0	
16	Myocardinfarkt	42 J.	180	62,0	0,832	97	2125,0	2900,0	2513,0	
17	Myocardinfarkt	76 J.	175	94,0	1,331	108	355,0	470,0	413,0	
18	Apoplexie	53 J.	168	72,0	1,104	121	140,0	32,5	66,0	
	Durchschnittswerte d. Gruppe:	59 J.	171	71,4	1,065	95	651,0	697,0	674,0	

Tab. 4.

Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Mainz

ILA-NGA

Rangtest nach Wilcoxon für unverbundene Stichproben

(Gruppe I - Gruppe mit geringerer Fallzahl

	Athero- I sklerose		Vergleichs- II kollektiv	
Fall Nr.	Meßwert	Rang	Meßwert	Rang
1	470	30	175	14
2	255	19,5	345	27
3	665	41	495	32,5
4	2560	46	170	11,5
5	385	29	170	11,5
6	795	42	540	36
7	270	22	305	24
8	570	37	105	5
9	140	9	200	18
10	1200	44	180	15,5
11	320	25	495	32,5
12	63	2	130	8
13	182	17	480	31
14	260	21	122,5	6
15	173	13	300	23
16	925	43	180	15,5
17	2125	45	125	7
18	355	28	93	4
19			57	1
20			83	3
21			255	19,5
22			625	40
23			590	38
24			600	39
25			510	35
26			500	34
27			325	26
28			150	10

n_1 Zahl der Fälle der I. Gruppe
n_2 Zahl der Fälle der II. Gruppe

Summe der Rangnummern R_1 von Gruppe I (1)	513,5	Summe der Rangnummern R_2 von Gruppe II (6)	
Erwartungswert für $R_1 = \frac{n_1(n_1+n_2+1)}{2}$ (2)	423,0	falls $n_1 \geq 4$, $n_2 \geq 4$ und $n_1+n_2 \geq 30$	
Testgröße $c^* = (1)-(2)$ (3)	90,5	$\frac{n_1 n_2 (n_1+n_2+1)}{12} = (2) \cdot \frac{n_2}{6}$ (4)	1974
Probe $\frac{(n_1+n_2)(n_1+n_2+1)}{2} = R_1 + R_2$		$\sqrt{(4)}$ (5)	44,43
		$u = \frac{(3)}{(5)}$	2,04

*siehe Pfanzagl: Allgemeine Methodenlehre der Statistik Band II Seite 270 u. 271 Göschen Bd. 740/747a

$1\% < P < 5\%$

500/25665

Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Mainz

Tab. 5.

ILA-Glukoseaufnahme

Rangtest nach Wilcoxon für unverbundene Stichproben

	Athero- I sklerose		Vergleichs II kollektiv		(Gruppe I - Gruppe mit geringerer Fallzahl
Fall Nr.	Meßwert	Rang	Meßwert	Rang	
1	450	35,5	70	5,5	
2	255	22	110	13	
3	450	35,5	340	27,5	
4	2700	45	102,5	11	
5	150	16	170	18	
6	275	24	75	7	
7	340	27,5	385	30	
8	300	26	29	1	
9	32,5	2	135	15	
10	1300	44	125	14	
11	230	20	380	29	
12	70	5,5	97,5	10	
13	160	17	280	25	
14	650	42	82,5	8	
15	610	41	232,5	21	
16	1200	43	260	23	
17	2900	46	190	19	
18	470	37	62,5	3	
19			64	4	
20			105	12	
21			550	39	
22			440	33	
23			445	34	
24			575	40	
25			395	31	
26			420	32	
27			480	38	
28			87	9	

n_1 Zahl der Fälle der I. Gruppe
n_2 Zahl der Fälle der II. Gruppe

Summe der Rangnummern R_1 von Gruppe I (1)	529,0	Summe der Rangnummern R_2 von Gruppe II (6)	
Erwartungswert für $R_1 = \frac{n_1(n_1+n_2+1)}{2}$ (2)	423,0	falls $n_1 \geq 4$, $n_2 \geq 4$ und $n_1+n_2 \geq 30$	
Testgröße $c^* = (1)-(2)$ (3)	106,0	$\frac{n_1 n_2 (n_1+n_2+1)}{12} = (2) \cdot \frac{n_2}{6}$ (4)	1974
Probe $\frac{(n_1+n_2)(n_1+n_2+1)}{2} = R_1 + R_2$		$\sqrt{(4)}$ (5)	44,43
		$u = \frac{(3)}{(5)}$	2,39

$1\% < P < 5\%$

*siehe Pfanzagl: Allgemeine Methodenlehre der Statistik Band II Seite 270 u. 271 Göschen Bd. 740/747a

500/25663

Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Mainz

Tab. 6.

Arithmetisches Mittel aus ILA-NGA und ILA-Gluk.aufn.

Rangtest nach Wilcoxon für unverbundene Stichproben

	Athero- I sklerose		Vergleichs- II kollektiv		(Gruppe I - Gruppe mit geringerer Fallzahl
Fall Nr.	Meßwert	Rang	Meßwert	Rang	
1	460,00	36,5	122,50	10	
2	255,00	19	227,50	18	
3	557,50	41	417,50	31	
4	2630,00	46	136,25	11	
5	267,50	21	170,00	15	
6	535,00	40	307,50	24	
7	305,00	23	345,00	25	
8	435,00	32	67,00	3	
9	86,25	5	167,50	14	
10	1250,00	44	162,50	13	
11	275,00	22	437,50	33	
12	66,50	2	113,75	8	
13	171,00	16	380,00	26	
14	455,00	35	102,50	7	
15	391,50	27	266,25	20	
16	1062,50	43	220,00	17	
17	2512,50	45	157,50	12	
18	412,50	30	77,75	4	
19			60,50	1	
20			94,00	6	
21			402,50	28,5	
22			532,50	39	
23			517,50	38	
24			587,50	42	
25			452,50	34	
26			460,00	36,5	
27			402,50	28,5	
28			118,50	9	

n_1 Zahl der Fälle der I. Gruppe
n_2 Zahl der Fälle der II. Gruppe

Summe der Rangnummern R_1 von Gruppe I (1)	527,5	Summe der Rangnummern R_2 von Gruppe II (6)	
Erwartungswert für $R_1 = \frac{n_1(n_1+n_2+1)}{2}$ (2)	423,0	falls $n_1 \geq 4$, $n_2 \geq 4$ und $n_1+n_2 \geq 30$	
Testgröße $c^* = (1)-(2)$ (3)		$\frac{n_1 n_2 (n_1+n_2+1)}{12} = (2) \quad \frac{n_2}{6}$ (4)	1974
Probe $\frac{(n_1+n_2)(n_1+n_2+1)}{2} = R_1 + R_2$	104,5	$\sqrt{(4)}$ (5)	44,43
		$u = \frac{(3)}{(5)}$	2,35

*siehe Pfanzagl: Allgemeine Methodenlehre der Statistik Band II Seite 270 u. 271 Göschen Bd. 740/747a

$1\% < P < 5\%$

500/25663

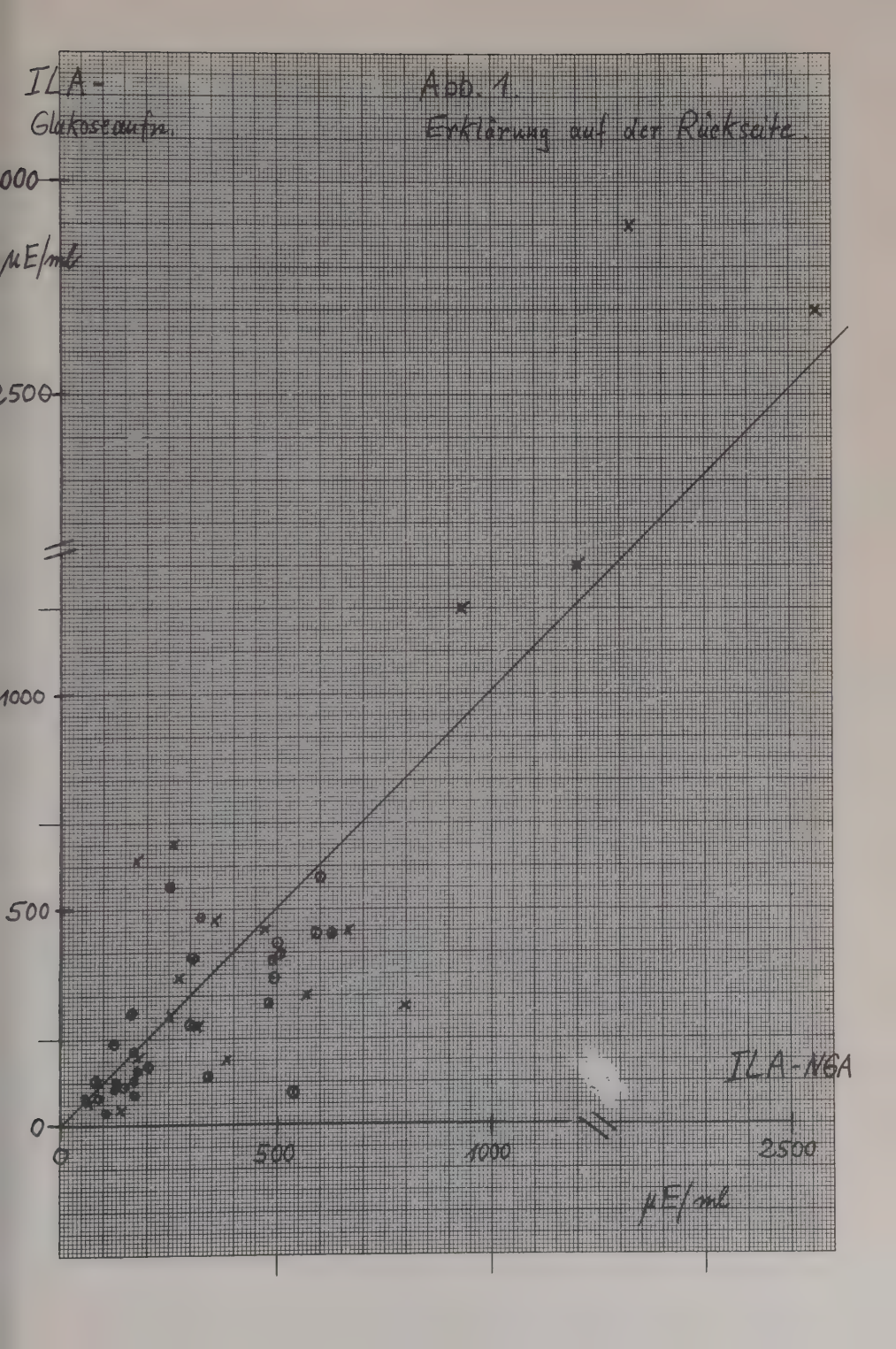

ILA-
Glukoseaufn.
Abb. 1.
Erklärung auf der Rückseite.
000
µE/mL
2500
1000
500
0
500
1000
2500
µE/mL
ILA-NGA

Abb. 1.

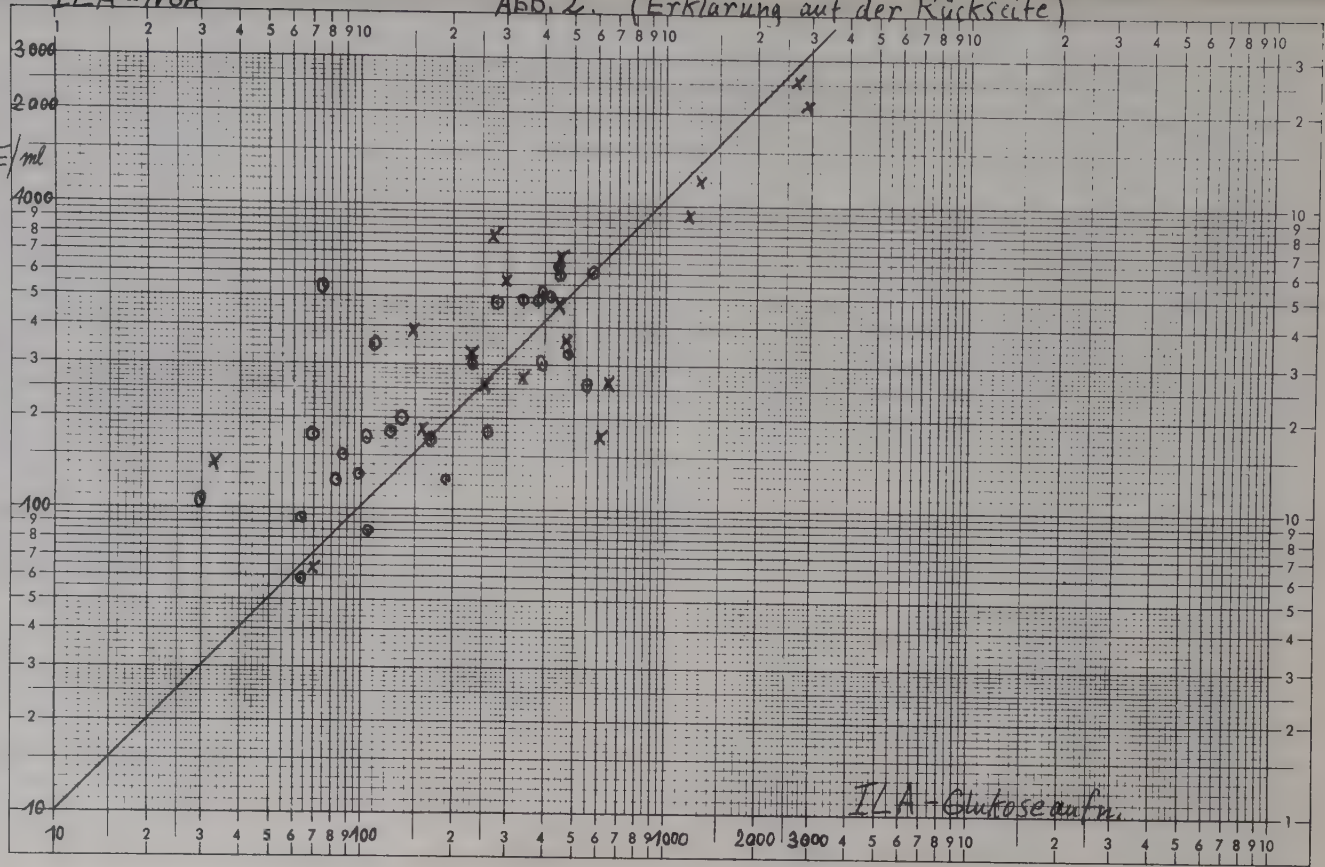
Diagramm der Beziehung zwischen ILA-Nettogasaustausch und ILA-Glukoseaufnahme.

Bei der eingezeichneten Gerade handelt es sich nicht um die Regressionsgerade, sondern um die 45-Grad-Linie.

Man sieht, daß eine gewisse lineare Abhängigkeit zwischen den dargestellten Größen besteht, jedoch mit erheblicher Streuung, besonders in den höheren Werten.

ILA-NGA

Abb. 2. (Erklärung auf der Rückseite)



Beide Achsen logar. geteilt von 1 bis 10000 und 1 bis 300 Einheit 62,5 mm

Abb. 2.

Diagramm der Beziehung zwischen den Logarithmen von ILA-Nettogasaustausch und ILA-Glukoseaufnahme.

Bei der eingezeichneten Gerade handelt es sich nicht um die Regressionsgerade, sondern um die 45-Grad-linie.

Die ~~xxxx~~ Annäherung an die 45-Grad-Linie ist besser als in Abb. 1.

Abb. 3.

Erklärung auf der Rückseite.

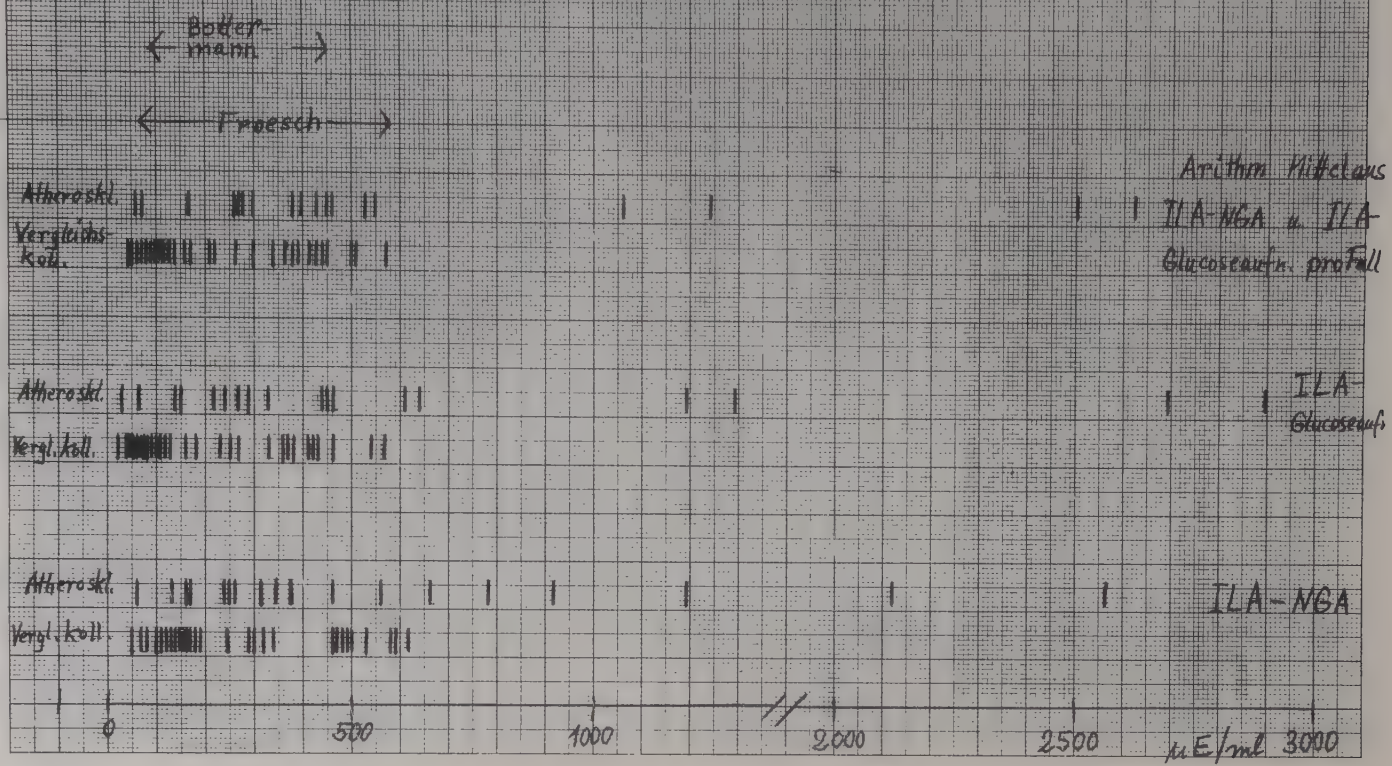


Abb. 3.

Diagramm der ILA-Werte von
Atherosklerose- und Vergleichskollektiv.

Es sind die ILA-Werte aus Nettogasaustausch und Glukoseaufnahme dargestellt sowie die arithmetischen Mittel hieraus. Jeder Strich bedeutet einen Fall. Man sieht die große Spannweite der Fälle. Darüberhinaus sind die von Froesch und Bottermann angegebenen "Normbereiche" eingetragen.

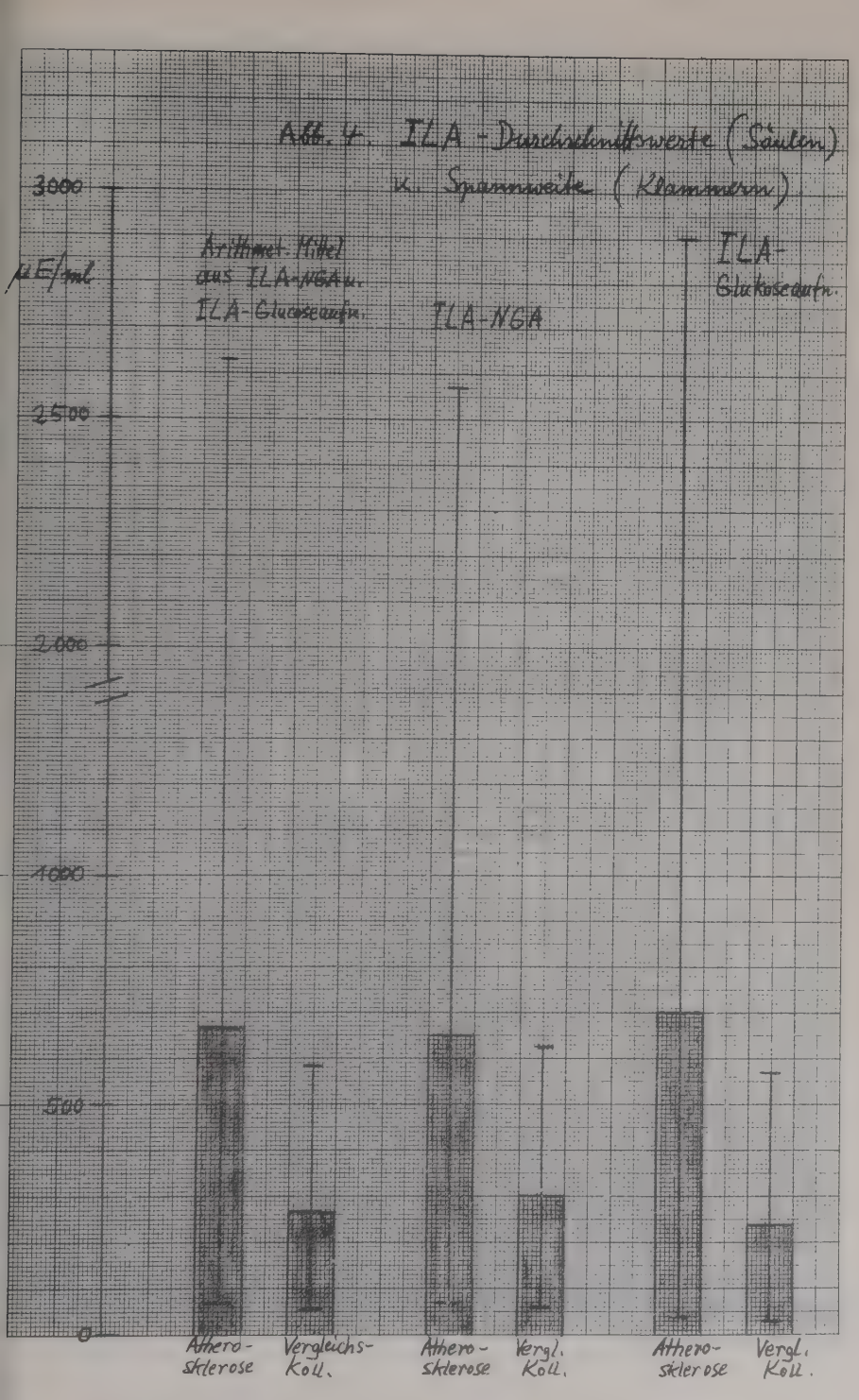


Abb. 4. ILA-Durchschnittswerte (Säulen)
u. Spannweite (Klammern).
3000
µE/ml
2500
2000
1000
500
0
Arithmet. Mittel
aus ILA-NGA u.
ILA-Glucoseaufn.
ILA-NGA
ILA-
Glucoseaufn.
Athero-
sklerose
Vergleichs-
Koll.
Athero-
sklerose
Vergl.
Koll.
Athero-
sklerose
Vergl.
Koll.

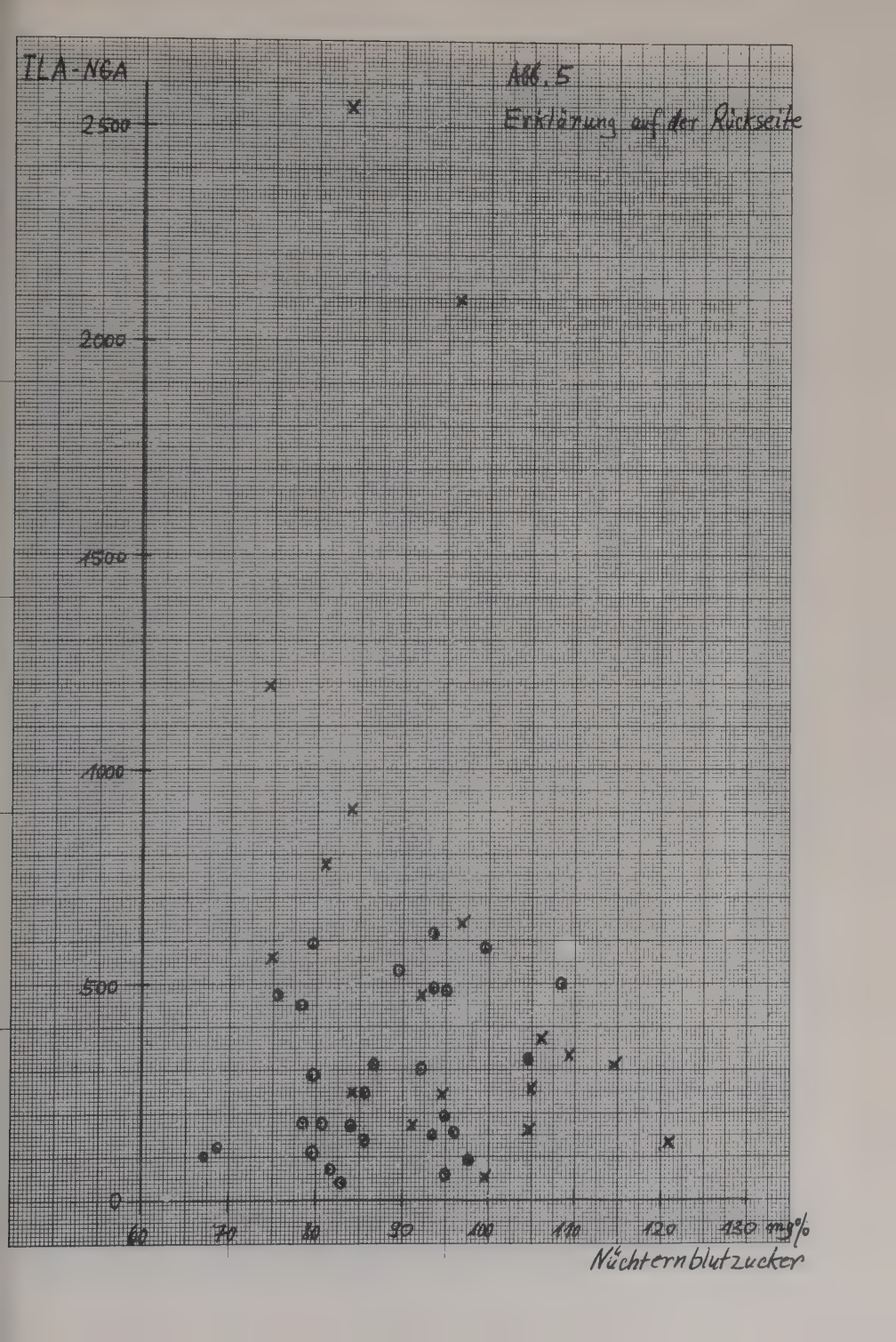

TLA-NGA
Abb. 5
Erklärung auf der Rückseite
2500
2000
1500
1000
500
0
60
70
80
90
100
110
120
130 mg%
Nüchternblutzucker

Abb. 5

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen ILA-Nettogasaustausch und Nüchternblutzucker ("wahre Glukose").

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

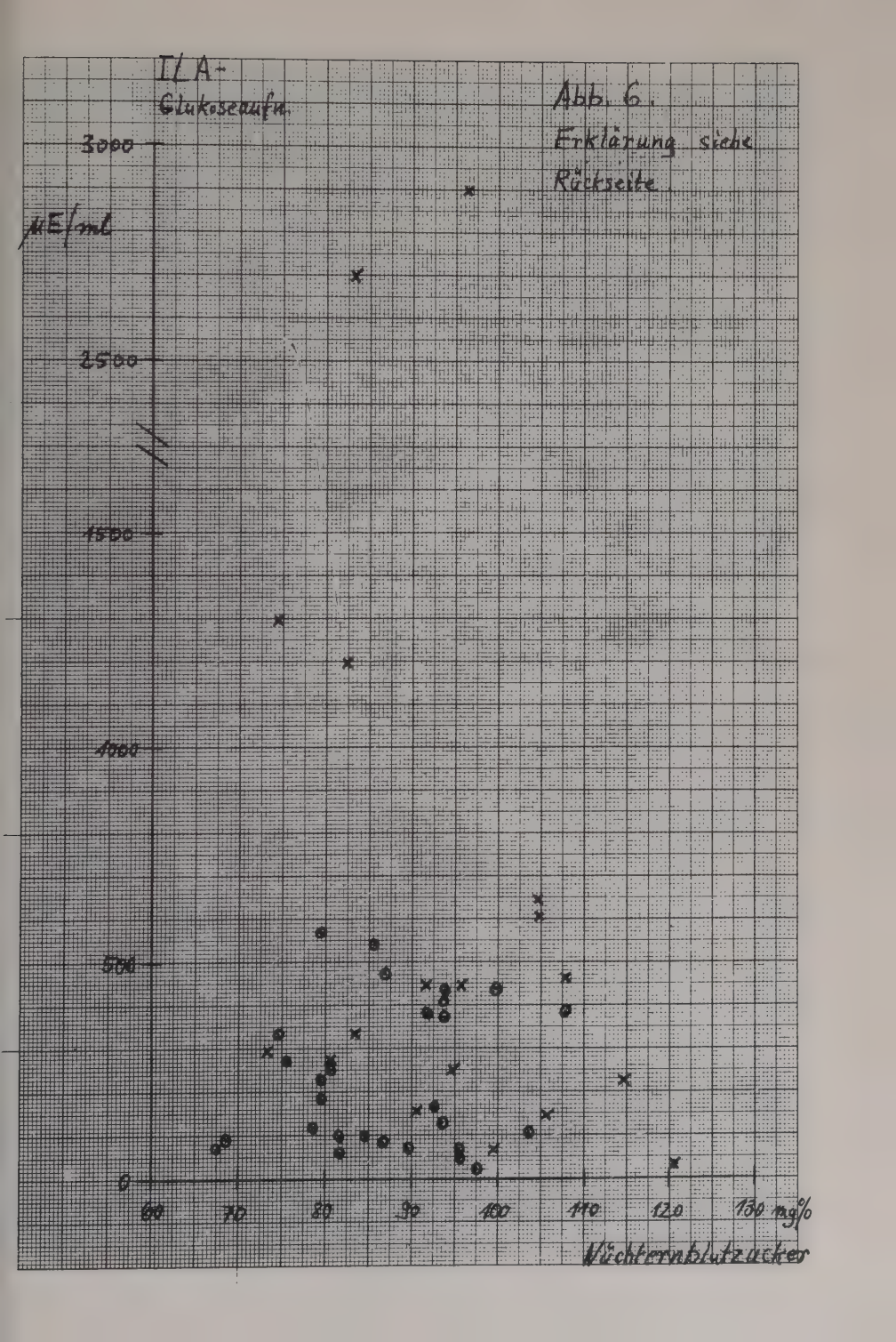

I/A-
Glukoseaufn.
Abb. 6.
Erklärung siehe
Rückseite
3000
µE/ml
2500
1500
1000
500
0
60
70
80
90
100
110
120
130 mg%
Nüchternblutzucker

Abb. 6.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen ILA-Glukoseaufnahme und Nüchternblutzucker ("wahre Glukose").

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

Abb. 7.

Erklärung s. Rückseite.

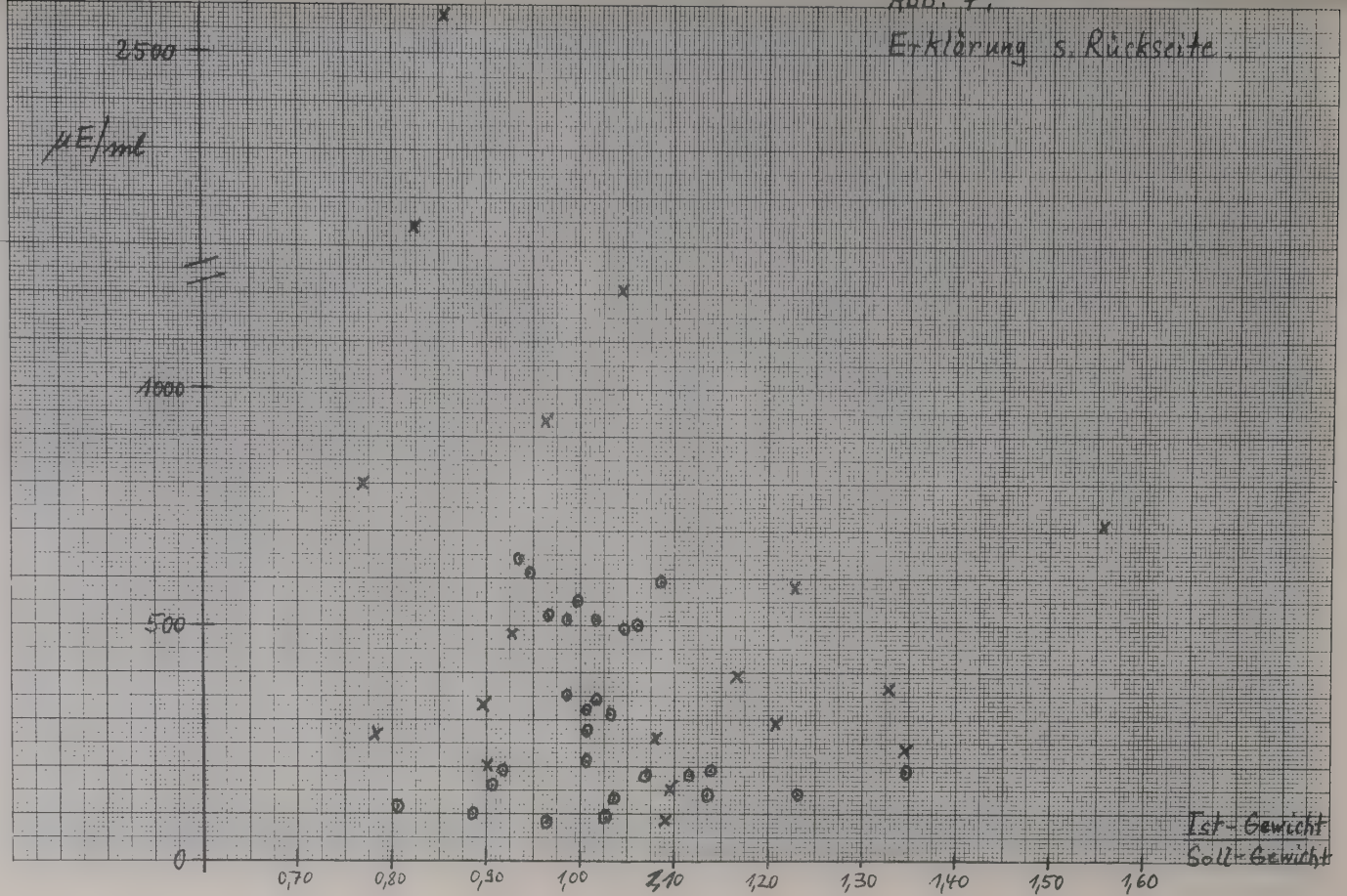


Abb. 7.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen ILA-Nettogasaustausch und Gewichtsindex.

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht,

Abb. 8. Erklärung s. Rückseite.

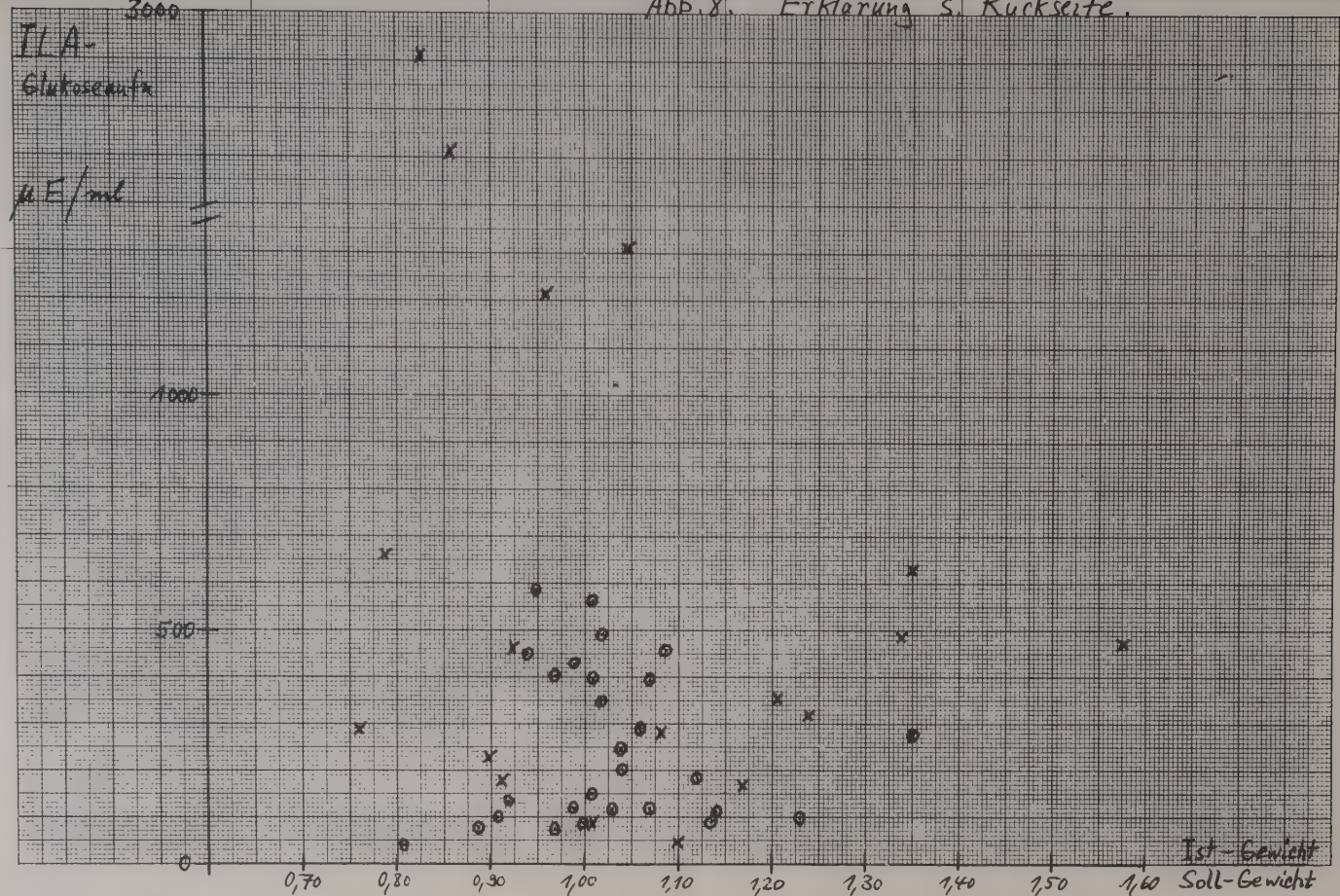


Abb. 8.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen ILA-Glukoseaufnahme und Gewichtsindex.

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

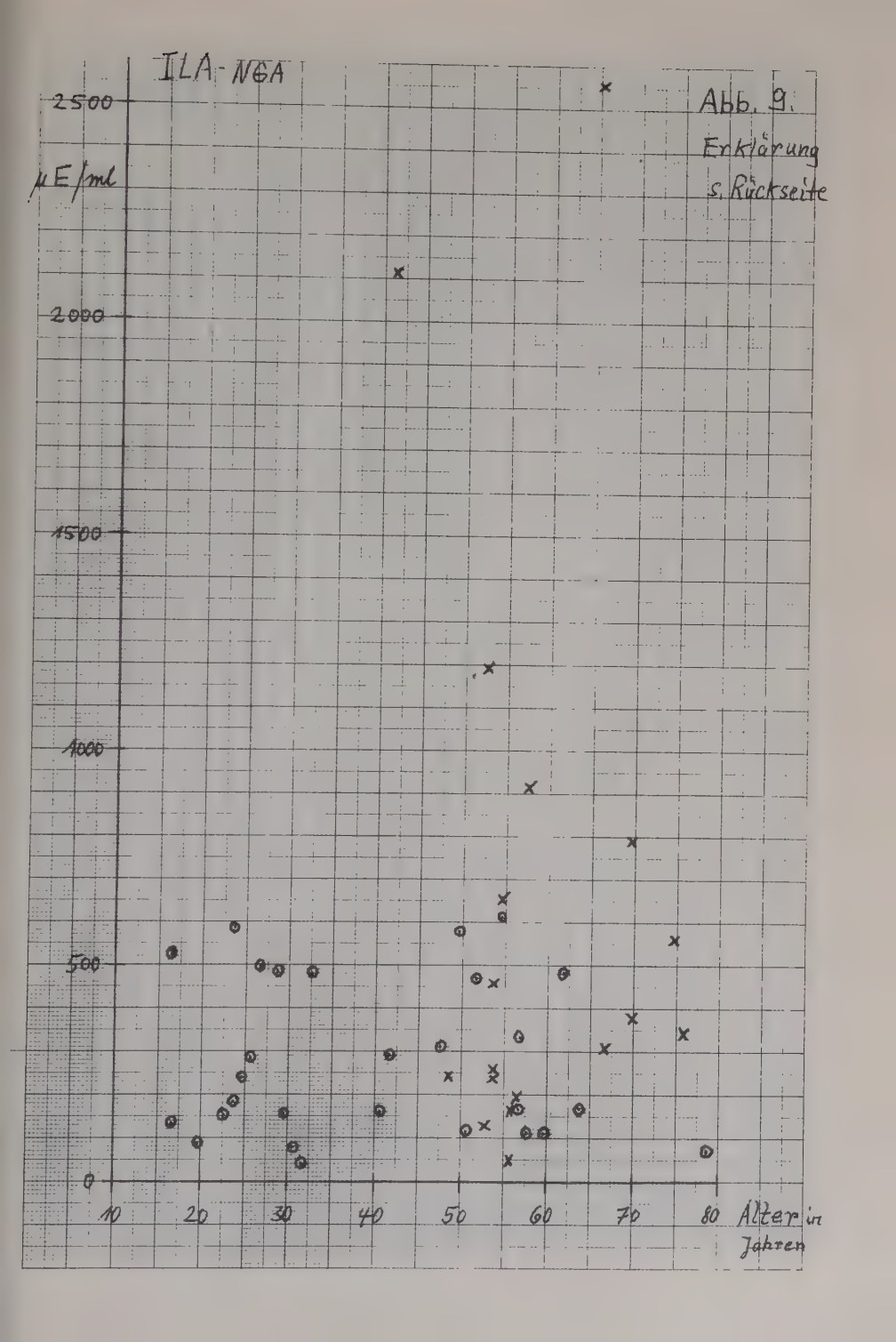

ILA-NGA
Abb. 9.
Erklärung
s. Rückseite
2500
µE/ml
2000
1500
1000
500
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Alter in Jahren

Abb. 9.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen ILA-Nettogasaustausch und Alter.

Man sieht daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

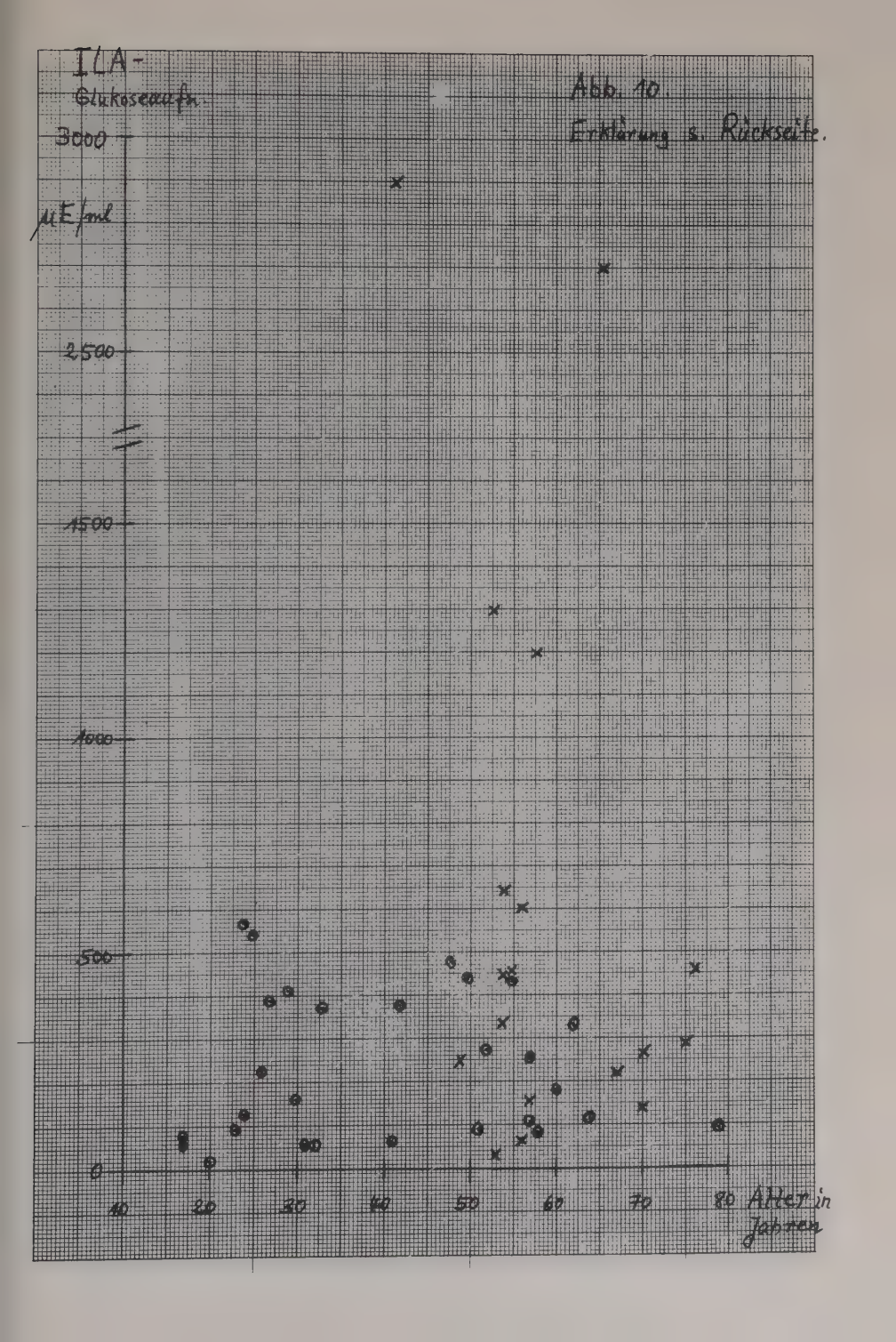

I(A-
Glukoseaufn.
Abb. 10.
Erklärung s. Rückseite.
3000
µE/ml
2500
1500
1000
500
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Alter in Jahren

Abb. 10.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen ILA-Glukoseaufnahme und Alter.

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

Abb. 11.

Erklärung s. Rückseite.

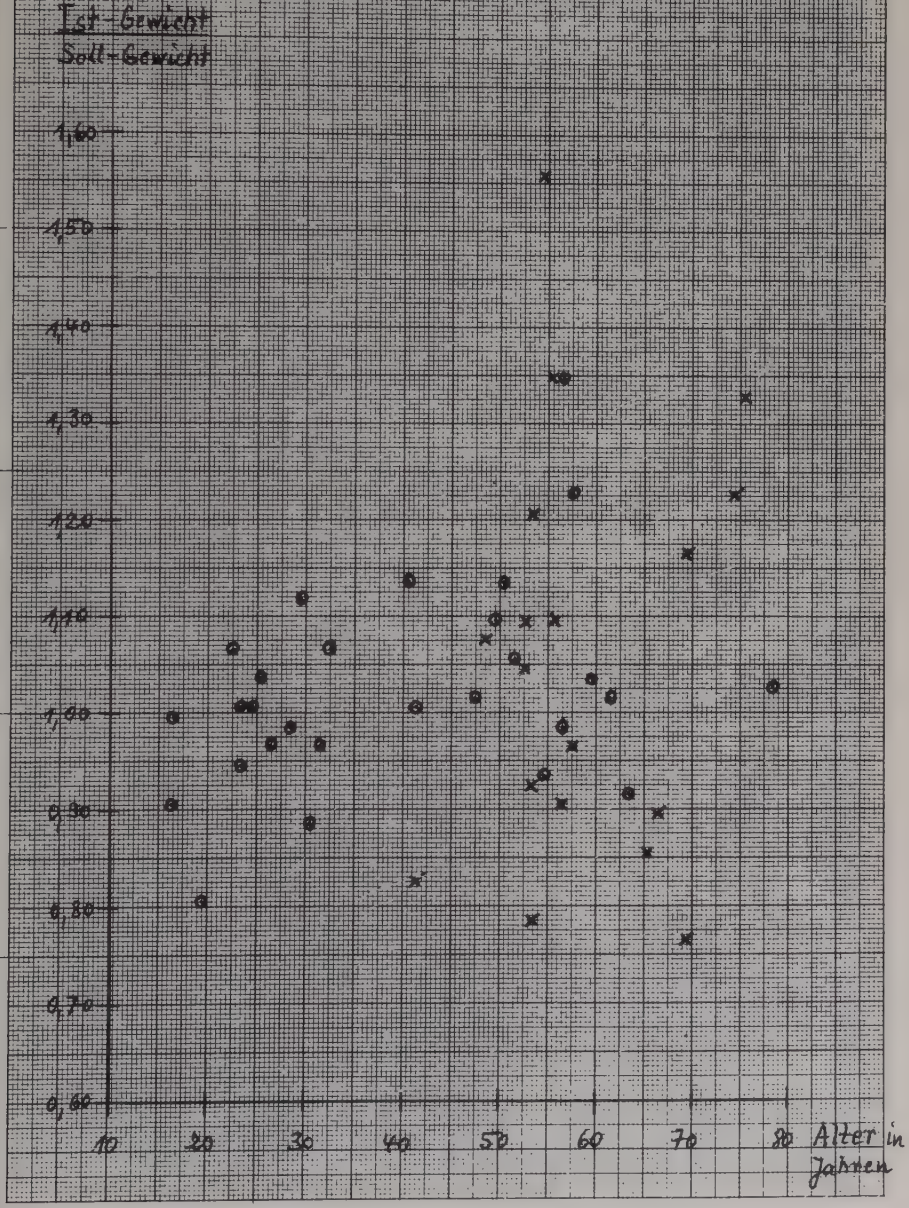


Abb. 11.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen Gewichtsindex und Alter.

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

Abb. 12.

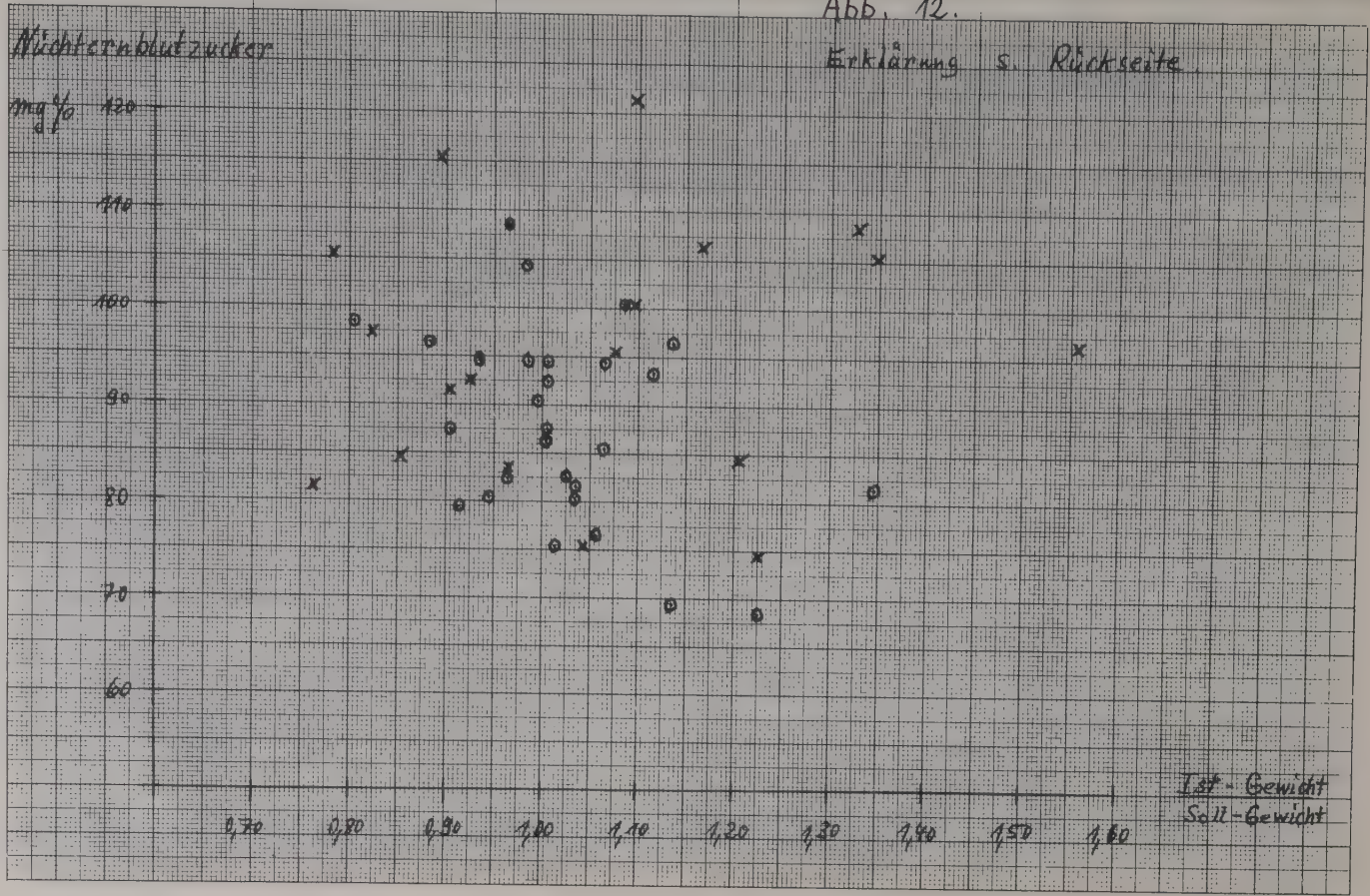

Nüchternblutzucker
Erklärung s. Rückseite.
mg %
120
110
100
90
80
70
60
0,70
0,80
0,90
1,00
1,10
1,20
1,30
1,40
1,50
1,60
Ist-Gewicht
Soll-Gewicht

Abb. 12.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen Nüchternblutzucker ("wahre Glukose") und Gewichtsindex.

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

Abb. 13.

Erklärung auf der Rückseite.

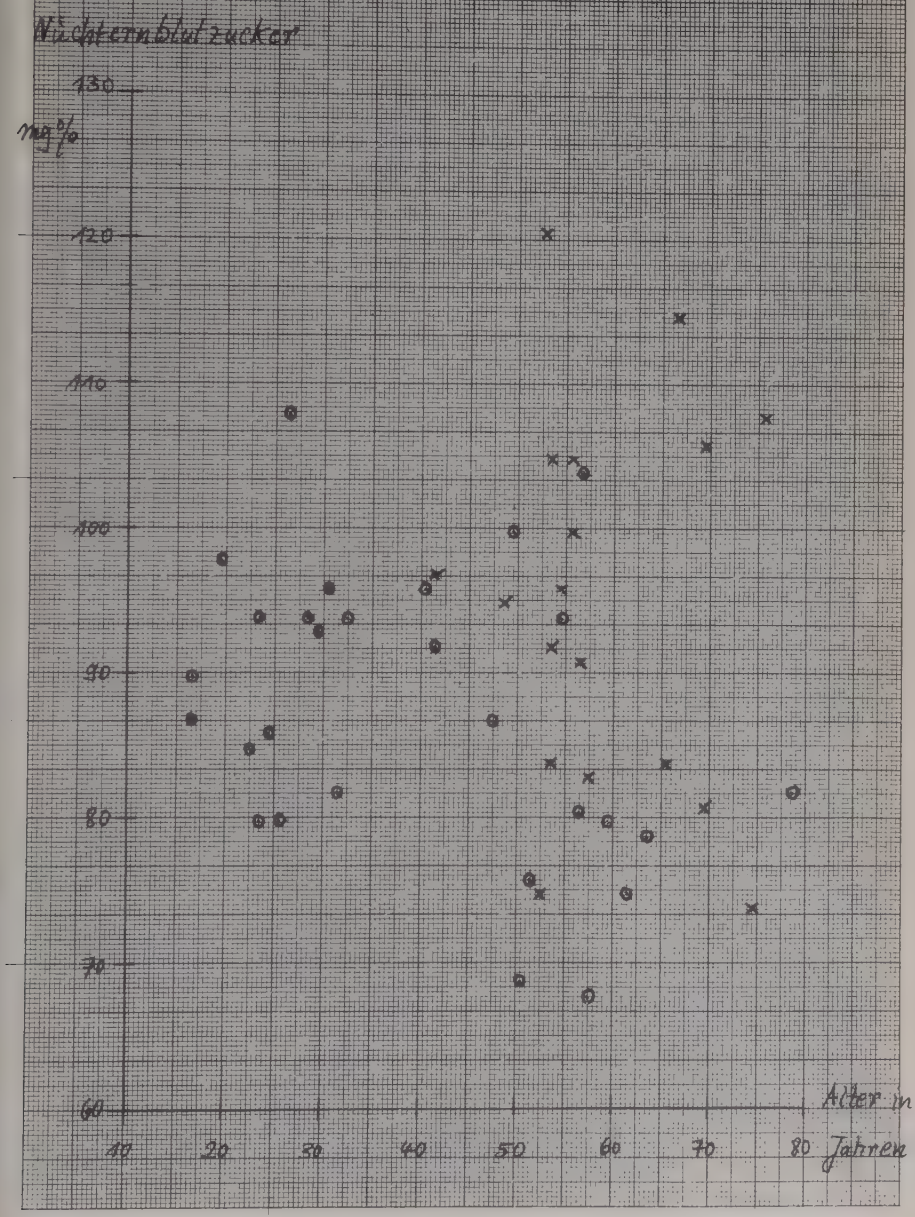


Abb. 13.

Streuungsdiagramm der Beziehung zwischen Nüchternblutzucker ("wahre Glukose") und Alter.

Man sieht, daß kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen besteht.

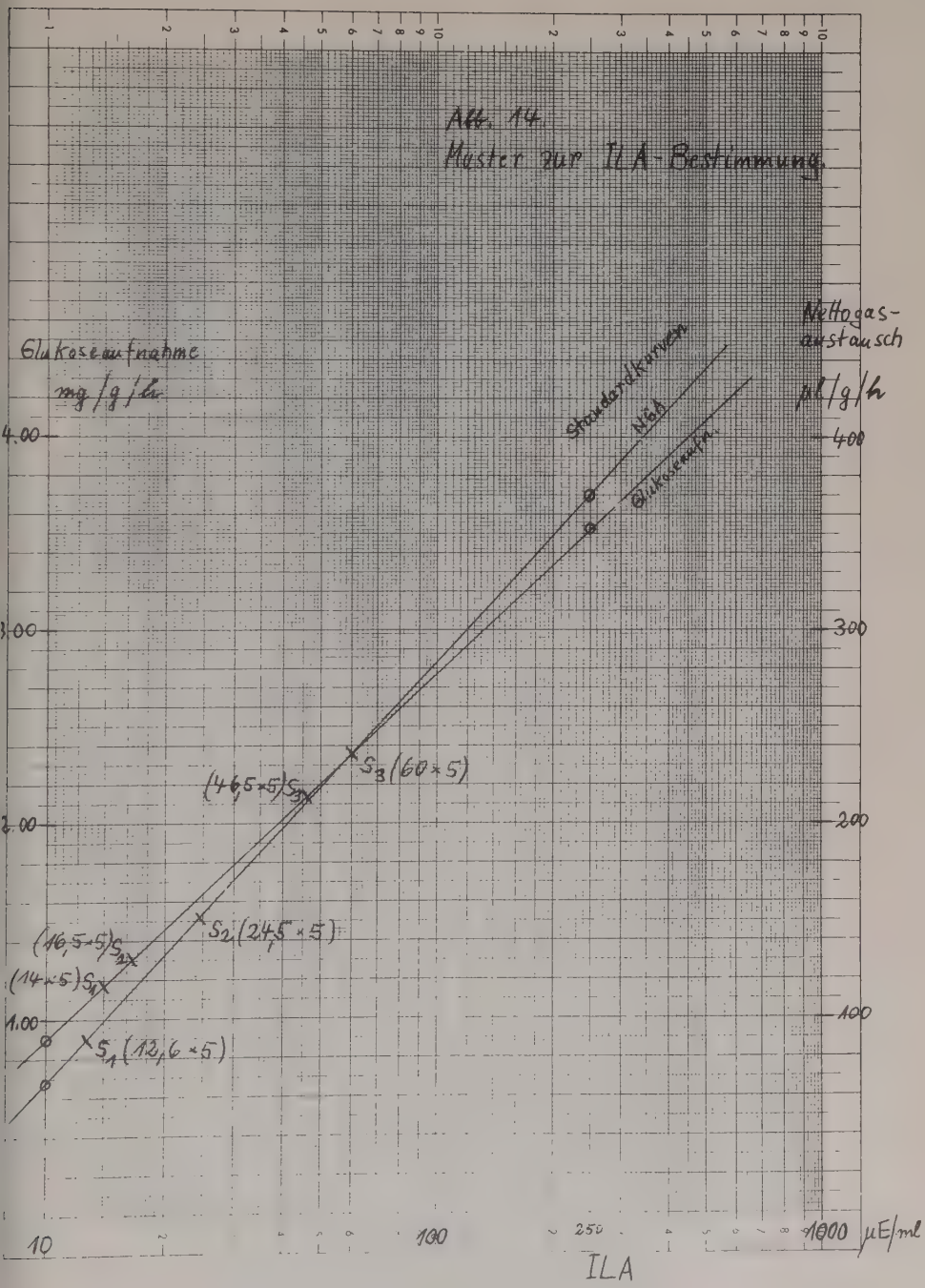


Abb. 14.
Muster zur ILA-Bestimmung.
Glukoseaufnahme
mg/g/h
Nettogas-
austausch
µl/g/h
Standardkurven
NGA
Glukoseaufn.
4.00
3.00
2.00
1.00
400
300
200
100
S_3 (60 × 5)
(46,5 × 5) S_3
S_2 (24,5 × 5)
(16,5 × 5) S_2
(14 × 5) S_1
S_1 (12,6 × 5)
10
100
250
1000 µE/ml
ILA

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Professor Knick für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates sowie Herrn Professor Schölmerich für die Übernahme des Korreferates meinen besonderen Dank aussprechen. Weiterhin gebührt mein Dank Herrn Dr. Lange für die statistische Beratung, Fräulein Marlis Simon für ihre freundliche Mithilfe bei der Durchführung der Versuche sowie den Herren Stationsärzten der II. Mediz. Univ.-Klinik und Poliklinik für ihre Unterstützung bei der Auswahl der Patienten.

LEBENSLAUF

Ich, Klaus Rochholz, bin am 6. März 1940 in Ludwigshafen am Rhein als ältester Sohn des Pfarrers Karl Rochholz und seiner Ehefrau Ilse, geb. Frey, geboren. Mein Vater ist 1943 in Rußland gefallen. Die Kriegsjahre verbrachte ich zusammen mit meiner Mutter und meinem dreieinhalb Jahre jüngeren Bruder in einem kleineren Ort der Pfalz. Seit Kriegsende sind wir in Ludwigshafen/Rhein wohnhaft. Dort besuchte ich vier Jahre lang die Volksschule und anschließend die neusprachliche Abteilung des dortigen Human. Gymnasiums, wo ich am 23. Februar 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Nachdem ich einen einjährigen Grundwehrdienst beim Fernmeldebataillon 5 in Koblenz abgeleistet hatte, begann ich im Sommersemester 1960 an der Universität Heidelberg mit dem Studium der Medizin. Nach fünf Semestern bestand ich daselbst am 30. Juli 1962 die ärztliche Vorprüfung mit der Gesamtnote "sehr gut".

In den Semesterferien unternahm ich des öfteren Reisen in das europäische Ausland. Im September 1962 wurde ich zu einer vierwöchigen Wehrübung bei der Fernmeldeleitkommandantur (RELLA Mitte) in Bergzabern (Pfalz) einberufen. Danach begann ich mein klinisches Studium an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität in Würzburg. Vom dritten klinischen Semester ab bin ich an der Universität Mainz immatrikuliert.

Vom 15.8. bis 26.10.63 famulierte ich auf der chirurgischen Frauenstation der Mainzer Universitätskliniken, vom 2.3. bis 27.4.64 an der II. Medizinischen Universitätsklinik.
Am 23.6.64 erhielt ich von Herrn Professor B. Knick, Oberarzt an der letztgenannten Klinik, das Thema "Plasmainsulinaktivität bei Atherosklerose" für eine Dissertation.

Anschrift des Verfassers: Klaus Rochholz
67 Ludwigshafen-Edigheim
Rheinrugenstraße 31